Untersuchungen über das Aroma der polnischen Weichselkirsche

Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der

Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Wilhelm Ebbighausen

aus Tecklenburg

1969

Untersuchungen über das Aroma der polnischen Weichselkirsche

Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

der

Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Wilhelm Ebbighausen

aus Tecklenburg

1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung	:	30. Oktober 1969
Dekan	:	Prof. Dr. A. Seilacher
1. Berichterstatter	:	Prof. Dr. E. Bayer
2. Berichterstatter	:	Prof. Dr. H. Auterhoff

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG · Tübingen

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Ernst Bayer in der Zeit von März 1967 bis April 1969 im Chemischen Institut der Eberhard-Karls-Universität Tübingen durchgeführt.

Meinem sehr verehrten Lehrer

Herrn Professor Dr. Ernst Bayer

danke ich aufrichtig für die Stellung des Themas, für viele wertvolle Anregungen und für das jederzeit gezeigte Interesse an dieser Arbeit.

Herrn Professor Dr. Eugen Müller

danke ich für die bereitwillige Überlassung der Instituts-einrichtungen.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung und Problemstellung	1
2.	Anreicherung von Aromen	3
2.1.	Allgemeine Gewinnungsverfahren	3
2.2.	Herstellung von Kirschenaroma	5
2.2.1.	Gewinnung von Kirschmuttersaft	6
2.2.2.	Gewinnung der verschiedenen Aromakonzentrate	6
2.2.3.	Kirschensirup	7
2.2.4.	Gewinnung von CO-Aroma	7
2.3.	Ausbeuten	8
3.	Analytik	9
3.1.	Untersuchung von KAF 67/1	9
3.1.1.	Organoleptische Prüfung und Grob - trennung	8
3.1.2.	Untersuchung der Fraktionen der Grobtrennung	14
3.1.2.1.	Fraktion I	15
3.1.2.2.	Fraktion II	17
3.1.2.3.	Fraktion III	20
3.1.2.4.	Fraktion IV	24
3.1.2.5.	Fraktion V	38
3.1.2.6.	Fraktion VI	43
3.2.	Hydrierung	46
3.3.	Bestimmung der Säuren	47
3.4.	Untersuchung von Kirschenaroma CO	49
4.1.	Zusammenstellung der identifizierten Substanzen	52

4. 2	Quantitative Berechnung	57
5.	Rekonstruktion des Kirschenaromas	59
6.	Experimenteller Teil	61
7.	Zusammenfassung	74
8.	Literatur	75

1. Einleitung und Problemstellung

Die Kirsche, lat. Prunus L., ist eine in sehr vielen Arten und Unterarten und auf der ganzen Erde vorkommende Frucht aus der Familie der Rosaceen. Die in Mitteleuropa am meisten verbreiteten Arten sind Prunus avium L., Prunus cerasus L., Prunus mahaleb L. und Prunus padus L. (1). In einer im Jahre 1819 erschienenen Klassifikation der Kirschensorten wurden bereits 441 Sorten aufgeführt. (2).

Neben ihrer Verwendung als Vitaminlieferant stellen die Kirschen aller Provenienzen mit ihrem spezifischen Aroma ein sehr beliebtes und auch weit verbreitetes Nahrungsmittel dar. So ist es nicht erstaunlich, daß das Interesse einer großen Zahl von Publikationen der Analytik der Stoffe in der Kirsche galt, die das spezifische Aroma und den Geschmack bedingen.

Während die ersten Arbeiten über die Inhaltsstoffe der Kirsche (3) sich noch auf den Nachweis nur einer speziellen Substanzklasse beschränkten, ging man später dazu über, ein typisches Kirschenbukett aus einem Kirschenbranntwein zu isolieren. Neben der Anreicherung des Aromas und dem Nachweis einiger in großen Mengen vorkommender Substanzen konnten mit den zur Verfügung stehenden Methoden jedoch keine größeren Erfolge der Identifizierung erzielt werden (4). Allerdings wurde schon mit Nachdruck auf die Kontrolle der Analytik durch sensorische Analysen verwiesen. Noch 1939 wiesen E. K. NELSON und A. L. CURL (5) darauf hin, daß neben Methanol, Aethanol, Benzaldehyd und Spuren Geraniol alle anderen Substanzen in zu geringen Mengen vorkommen, um bestimmt werden zu können.

Erst durch die Entwicklung der Gas-Chromatographie und besonders der Kombination von Gas-Chromato - graphie und Massenspektrometrie nahm die Analytik der Aromastoffe von Früchten einen großen Aufschwung (6. 7. 8. 9). Glücklicherweise standen seit Beginn dieser Arbeit mehrere analytische und präparative Gaschroma- tographen, sowie eine Kombination Gaschromatograph - Massenspektrometer zur Verfügung.

Das Ziel dieser Arbeit war die Trennung und Indentifi- zierung der Aromastoffe der polnischen Weichselkirsche "Sukovka", lat. Prunus cerasus L. var. austera und die anschließende Rekonstruktion des Aromas.

2. Anreicherung von Aromen

2.1. Allgemeine Gewinnungsverfahren.

Für die Analyse von Aromastoffen aus Frischfrüchten, Säften und Getränken ist eine Abtrennung von den Ballaststoffen und eine schonende Konzentrierung unerlässlich. Die meisten geruchbildenden Substanzen liegen nämlich in den verschiedenen Substraten in Konzentrationen weit unter 1 ppm vor. Dazu unterscheiden sich die Mengenverhältnisse oft um 3 - 5 Zehnerpotenzen. Das Abtrennen und Konzentrieren schließt natürlich die Gefahr der Veränderung des Aromas durch Isomerisierungen, Kondensationen oder fermentativ bedingte Umlagerungen ein. Zur Umgehung dieser Schwierigkeiten schlagen R. G. BUTTERY und R. TERANISHI (10) die "Head-Space-Analysis" vor. Der Vorteil dieser Analysenmethode, bei der das über dem leicht erwärmten Substrat befindliche Gas direkt der Analyse zugeführt wird, liegt zum einen in der sehr schonenden Behandlung des Produktes, zum anderen in der Angabe der Mengen der einzelnen Substanzen in einer Konzentration, wie sie auch der Geruchssinn wahrnimmt (11). Ein weiterer Vorteil der "Head-Space-Analysis" liegt in der Geschwindigkeit, mit der eine solche Analyse durchgeführt werden kann. So wurde von O. RIEDL (12) eine Analyse beschrieben, bei der 30 Minuten nach Mahlen von 30 Gramm Kakaobohnen sieben Substanzen aus dem Gasraum über dem Substrat bestimmt werden konnten. K. H. STRACKENBROCK (13) wandelte diese Methode so ab, daß er durch Leiten von Gas durch ein Getränk die Aromastoffe verdampfte, an Kohle auf der Flüssigkeitsoberfläche absorbierte und nach Desorption durch Tiefkühlung und Kondensation ein Gemisch erhielt,

welches direkt untersucht werden konnte.

Ein nicht zu übersehender Nachteil der "Head-Space-Analysis" liegt darin, daß nur solche Substanzen, die einen relativ eng begrenzten, tiefen Siedebereich haben, erfasst werden. Die richtige Beschreibung der Duftkomposition ist aber nur bei ganz wenigen Aromen ausschließlich von tiefsiedenden Substanzen abhängig. W. G. JENNINGS (14) und G. BERNER (15) wiesen z. B. nach, daß das spezifische Aroma der Williams-Christ-Birne von nur einer hochsiedenden Substanz gebildet wird. Gleichzeitig wiesen sie darauf hin, daß die genaue Beschreibung der Aromakomposition erst durch eine möglichst umfassende Analyse gegeben wird.

Bei der Analyse des Kirschenaromas konnte sehr schnell festgestellt werden, daß die den spezifischen Geruch bildenden Substanzen ausschließlich in einem Siedebereich anzutreffen waren, für dessen Untersuchung auf die Anwendung der "Head-Space-Analysis" verzichtet werden musste.

Zur Extraktion und Anreicherung von Aromastoffen aus Früchten, Getränken und Lebensmitteln wurden im Laufe der Zeit mannigfache Anreicherungsverfahren vorgeschlagen : Einige Arbeitsgruppen erreichten eine Konzentrierung der oft sehr wärmeempfindlichen Aromastoffe durch eine Ent - gasung im Hochvakuum oder durch Vakuumdestillation in tiefgekühlte Vorlagen. Andere Arbeitskreise erzielten die besten Ergebnisse durch kontinuierliche Extraktion mit tiefsiedenden Lösungsmitteln oder Lösungsmittelgemischen.

Ein Pentan-Aether-Gemisch im Verhältnis 2 : 1 wird besonders häufig bevorzugt. Auch über die Gas-flüssig-Extraktion mit Kohlendioxid-Propangemischen wurde berichtet.

2. 2. Herstellung von Kirschenaroma

Bei der nachfolgend beschriebenen Aufarbeitung durch die Firma Haarmann + Reimer, Holzminden[+] wurde einer Gas-flüssig-Extraktion mit Frigen 11 A (Mono - fluortrichlormethan) als Lösungsmittel der Vorzug ge - geben.

[+]Bei der Firma Haarmann + Reimer GmbH, Holzminden, möchte ich mich an dieser Stelle für die Aufarbeitung und Überlassung der Aromakonzentrate und für die Einsicht in eine Literaturrecherche der erschienenen Publikationen über die Analytik des Kirschenaromas recht herzlich be - danken.

2.2.1. Gewinnung von Kirschmuttersaft.
Die polnische Weichselkirsche "Sukovka" diente als Ausgangsprodukt für die Gewinnung von Kirschmuttersaft. Nach der Ernte wurden die Kirschen für die Lagerung und den Transport tiefgefroren und später über Schnecken mit 1 atü entfrostet.

Beim anschließenden Mahlen wurden 20 % der Steine zerbrochen.

Die Maische wurde durch Zusatz von "Pektinol flüssig" (extra konzentriert 1 : 1000) fermentiert und nach einiger Zeit abgepresst. Der Saft wurde mit Hilfe eines Vibrationssiebes zunächst von seinen Trübbestandteilen befreit und durch Separatoren geklärt und abgefüllt. Die maximale Temperatur in diesem Arbeitsprozess lag bei 85° C.

2.2.2. Gewinnung der verschiedenen Aromakonzentrate KAF 67/1, KAF 67/2, KAG 67 und KAF 68/1.
(KAF 67: Kirschenaroma, fermentiert, Jahrgang 1967, Charge 1 und 2 und Jahrgang 1968.
KAG : Kirschenaroma, gärend).

Für die Gewinnung der einzelnen Aromakonzentrate wurde der Kirschmuttersaft im Gegenstrom in einer wassergekühlten Scheibelkolonne von 200 cm Länge und 6 cm Durchmesser im Gegenstrom extrahiert. Als Extraktionsmittel wurde Frigen 11 A mit einem Siedepunkt von -39.8° C verwendet. Um eine Emulsionsbildung zu vermeiden, wurde Citronensäure zugesetzt. Das überschüssige Extraktionsmittel wurde über eine ummantelte Sigwartkolonne bei einer Sumpftemperatur von 36° C abdestilliert. Restliche Lösungsmittelmengen

wurden aus dem Aroma durch Abziehen im Vakuum entfernt.

Da bei einer kleineren Menge des Saftes während der Aufarbeitung Gärung eingetreten war, wurde diese Charge getrennt aufgearbeitet.

2.2.3. Kirschensirup.

Der Kirschensirup wurde aus dem Kirschensaft-nach Zusatz von Blei(II)-nitrat zur Fixierung der flüchtigen Säuren- durch Destillation über eine 80 cm Sigwart-kolonne bei einem Druck von 40 mm und einer Sumpf - temperatur von 40° C erhalten.

2.2.4. Gewinnung von CO-Aroma

Das Kirscharoma-CO fiel bei der Gewinnung von Dicksaft an. Hierbei wurde der Kirschmuttersaft vollständig fermentiert und über Kieselgur filtriert. Der blanke Saft wurde anschließend in einer Jedinstvo-Anlage eingedickt und die anfallenden Brüden im Vakuum bei 45° C rektifiziert, wobei die Vakuumluft auf -40° C gekühlt wurde. Die Ausbeute betrug 2,8 - 3,4 kg/1000 kg Saft.

2.3. Ausbeuten

Die Ausbeuten nach den in 2.2.1. - 2.2.4. beschriebenen Aufarbeitungsverfahren betrugen:

Konzentrat	Ausgang	Auswaage	%
KAF 67/1	950 kg Kirschsaft fermentiert	25.50 g	0.002685
KAF 67/2	200 kg Kirschsaft fermentiert	2.8834 g	0.00144
KAG 67	50 kg Kirschsaft gärend	10.25 g	0.0205
KAF 68/1	500 kg Kirschsaft fermentiert	13.0 g	0.0026
KAS	50 kg Kirschsaft	5.0 kg Sirup	10.0
CO-Aroma	Kirschensaft	-	2.8-3.4

3. Analytik

3.1 Untersuchung von KAF 67/1

3.1.1. Organoleptische Prüfung und Grobtrennung

Das Aromakonzentrat KAF 67/1 wurde, obwohl es durch die Berührung mit Kunststoffen durch Weichmacher verunreinigt war, als Hauptausgangssubstanz für die einzelnen Untersuchungen verwendet. Abgesehen von der Menge war der Geruch dieser Charge durch die günstige Verteilung der Substanzen besonders gut ausgeprägt. In vergleichenden Chromatogrammen konnte nachgewiesen werden, daß die einzelnen Aufarbeitungen KAF 67/1 + 2, KAG 67 und KAF 68 nur quantitative Unterschiede zeigten (s. Abb. 33 a-d).

E. BAYER (16) weist darauf hin, daß man sich gerade bei der Untersuchung von Aromastoffen der organoleptischen Prüfung bedienen muß, um überhaupt zu einem Ergebnis zu kommen. Für eine möglichst schnelle Auffindung der interessant riechenden Fraktionen in dem Gesamtaroma wurde dieses schonend chromatographiert und die spezifisch riechenden Fraktionen lokalisiert:

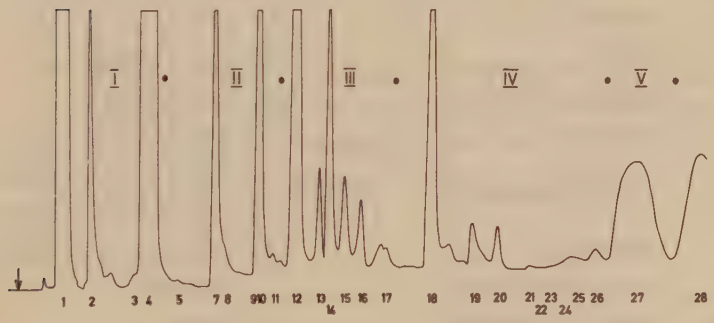


Abb. 1: Gaschromatogramm von KAF 67/1. Teil 1+

+ Die vollständigen Bedingungen für die folgenden Gaschromatogramme werden im experimentellen Teil angegeben.

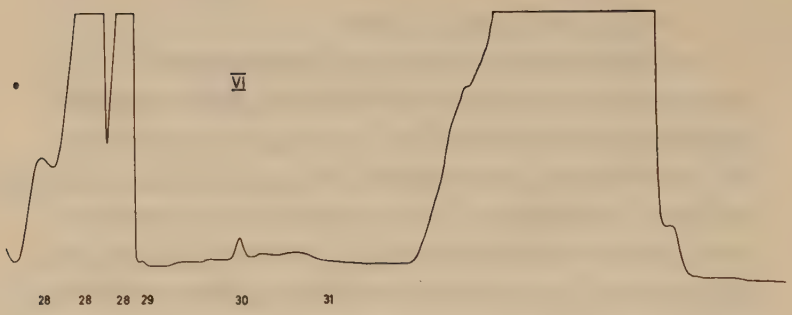


Abb. 1: Gaschromatogramm der organoleptischen Prüfung des Gesamtaromas KAF 67/1 mit Markierung der Duftnoten. Teil II

Im einzelnen wurden folgende Duftnoten an den entsprechend markierten Stellen im Chromatogramm der Abb. 1 wahrgenommen.

1	ranzig, esterartig	17	wachsartig, seifig
2	fruchtig, esterartig		süßlich, brandig
3	ranzig	18	gewürznelkenartig
4	fuselölartig, brandig	19	süßlich
5	fruchtig, bananenähnlich	20	gewürzartig-scharf
6	esterartig	21	herb
7	süßlich	22	cumarinähnlich
8	süßlich, esteratig, terpenartig	23	vanilleartig
		24	kirschig, süßlich
9	bittermandelartig	25	aromatisch, fruchtig
10		26	aromatisch, fruchtig
11	terpenartig	27	schwach cumarinähnlich, fruchtig
12	benzylalkoholartig		
13	frisch, mentholartig	28	muffig
14	frisch, kartoffelig	29	angenehm, süßlich
15	terpenartig	30	süßlich
16	scharf, krautig	31	muffig

Es muß erwähnt werden, daß die Beschreibung der einzelnen Duftnoten wegen des sehr unterschiedlich zusammengesetzten Gemisches subjektiv und unzureichend ist. Die zur Lokalisation der "Duftfraktionen" eingesetzte Substanz wurde durch Kondensation bei -70° C wieder aufgefangen und mit dem unbearbeiteten Kirschenaromakonzentrat verglichen. Eine Veränderung des Duftspektrums konnte durch diese wiederholte organoleptische Prüfung nicht nachgewiesen werden.

Da in den bereits vorliegenden Untersuchungen über die Aromastoffe der Kirsche (17) die verschiedensten Verbindungsklassen, wie z. B. Alkohole, Säuren, Carbonylverbindungen und Phenole erwähnt wurden, sollte zunächst eine Trennung nach der bei J. SCHORMÜLLER und W. GROSCH (18) beschriebenen Weise vorgenommen werden. Da sowohl die Abtrennung der Alkohole als auch der Carbonylverbindungen und Phenole nach diesem Verfahren kein nennenswertes Ergebnis zeigte, wurden lediglich die Säuren als Natrium-Salze von dem Aromakonzentrat abgetrennt und gesondert analysiert (s. Kap. 3.3.).

Wegen der geringen zur Verfügung stehenden Substanzmenge und der relativ hohen Verluste bei Grobtrennungen (ca. 40 %) wurde die Trennung von KAF 67/1 in nur sechs Fraktionen nach dem folgenden Schema vorgenommen:

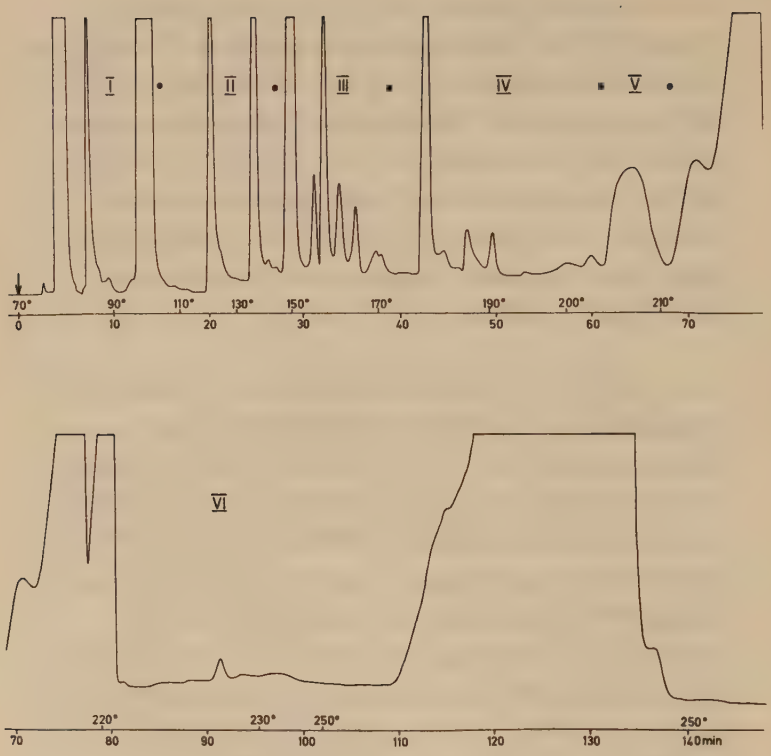


Abb. 2: Grobtrennung von KAF 67/1 in die Fraktionen I - VI
Aerograph Autoprep Model A-700
Säule: 3,5 m Cu, 10 mm ∅
10 % SE 30 auf Kieselgel 0.200 - 0.215 mm ∅
Temp.: 70 - 250° C, Trägergas 80 ml He/min.
Einspritzmenge: 250 µl, Trenndauer ca. 3 h
35 Trenncyclen, weitere Bedingungen: s. Experimenteller Teil.

Die einzelnen Fraktionen der Grobtrennung wurden bei -60 bis -80° C kondensiert und erneut der organoleptischen Prüfung unterworfen. Bei der Prüfung der einzelnen Kondensate konnten folgende Duftnoten festgestellt werden:

Fraktion	Duftbeschreibung
I	fruchtig, dann brandig
II	esterartig, bittermandelartig, krautig
III	bittermandelartig, frisch, seifig, stark gewürzartig, wenig süßlich
IV	nelkenartig, cumarinähnlich, süßlich, kirschig, muffig
V	cumarinähnlich, muffig, süßlich
VI	muffig

Als interessanteste Fraktion erwies sich die Fraktion IV, die mit dem ursprünglichen gesamten Aromakonzentrat die größte Ähnlichkeit zeigte. Diese Beobachtung stimmt mit Untersuchungen von E. WASER und G. MOSCA (19) im Jahr 1937 überein, die die dem Kirscharoma ähnlichste Fraktion im höhersiedenden Bereich vermuteten.

3.1.2. Untersuchung der Fraktionen der Grobtrennung

Für die Untersuchung der einzelnen Fraktionen wurde neben den verschiedenen analytischen und präparativen Gaschromatographen hauptsächlich die Kombination von Gaschromatograph-Massenspektrometer eingesetzt. Mit Hilfe dieser Kombination können auch nur in sehr geringen Mengen vorkommende Substanzen analysiert werden. Das Massenspektrometer wird dabei als Detektor für den Gaschromatographen verwendet. Bei Benutzung von Gaschromatographen mit Wärmeleitfähigkeits- oder Flammenionisationsdetektoren kann eine in Spuren vorkommende Substanz nur durch den Vergleich von Retentionszeiten identifiziert werden. Eine präparative Trennung zur Gewinnung von zusätzlich hinweisenden Daten scheidet aus. Bei der Verwendung der Kombination Gaschromatograph - Massenspektrometer dagegen kann von sauber getrennten, in Spuren vorkommenden Substanzen ein Massenspektrum aufgenommen werden. In vielen Fällen kann durch die Bestimmung des Molekulargewichtes und die Bruchstückbildung eine solche Substanz gleich identifiziert werden. Allerdings muß eingeräumt werden, daß die Massenspektrometrie alleine u. a. bei Hydroxyverbindungen, Acetalen, Aethern und olefinischen Verbindungen keine zuverlässigen Aussagen liefert (20), sodaß in diesen Fällen auf Vergleichssubstanzen zur Gewinnung von Vergleichsmassenspektren und vergleichenden Retentionsdaten zurückgegriffen werden muß.

3.1.2.1. Fraktion I

Neben den in der Tabelle "Identifizierte Substanzen" auf - geführten Verbindungen sei hier besonders auf das Vor - kommen von Pentanon-2 hingewiesen. In der Untersuchung von E. WASER und G. MOSCA (19) "Über die Aromastoffe der Kirschmaische" wurde Methyl-aethylketon als 2.4 - Dinitrophenylhydrazon nachgewiesen. In unseren Extrakten konnte diese Substanz nicht gefunden werden.

Für das Vorliegen von Diacetyl wurden sowohl in der Untersuchung von E. WASER und G. MOSCA (19) als auch in einer Arbeit von H. MOHLER und W. HÄMMERLE (21) Vermutungen ausgesprochen. Wegen der sehr ge - ringen Menge konnten diese Arbeitskreise jedoch keinen exakten Nachweis erbringen. In dieser Arbeit wurde das Diacetyl ganz eindeutig an dem Massenspektrum erkannt und ausserdem durch die Retentionszeit einer Vergleichs - substanz bewiesen. Neben Pentanon-2 und Pentandion-2.3., welches auch in dieser Fraktion gefunden wurde, wird das "Rohbukett" des Kirschenaromas durch diese Substanzen mit ihrem starken Eigengeruch wesentlich verfeinert.

Der sehr große Peak des i-Amylalkohols (s. Abb. 3, Peak 7) wird sicherlich zusammengesetzt aus 3-Methyl- butanol-(1) und 2-Methylbutanol-(1) (=Gärungsamylalkohol). Eine Auftrennung in diese Isomere konnte allerdings auf keiner der verwendeten gaschromatographischen Trenn - säulen erzielt werden. Von Beginn bis zu Ende dieses Peaks wurden mehrere Massenspektren aufgenommen.

Die Verschiebung der relativen Intensitäten in diesen Massenspektren bekräftigen die Vermutung für das gemeinsame Vorliegen dieser Isomere.

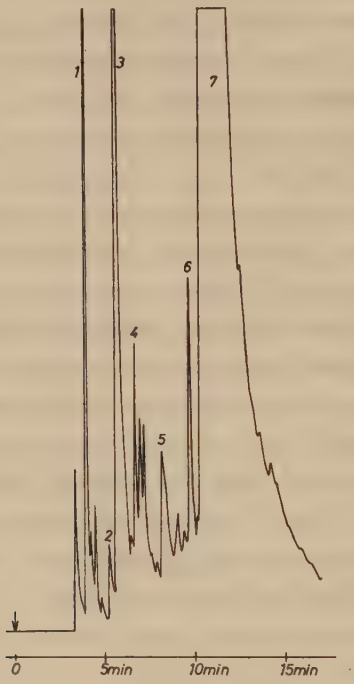


Abb. 3 Gaschromatogramm der Fraktion I der Grobtrennung. LKB 9000, 2.0 µl Substanz, Säule E^{+}, Zimmertemperatur isotherm, Trägergas: 18 ml He/min.

$^{+}$Erklärung s. Experimenteller Teil

3.1.2.2. Fraktion II

In dieser Fraktion (Abb. 6) treten sehr große Mengen von Benzaldehyd (Peak 6) und Benzylalkohol (Peak 8) auf, die sofort durch ihre Massenspektren erkannt wurden.

E. K. NELSON und A. L. CURL (5) veröffentlichten 1939 eine Untersuchung über die Aromastoffe aus dem Saft der Montmorency-Kirschen. In dieser Untersuchung wurde schon auf den sehr hohen Gehalt an Benzaldehyd, der vielleicht sogar allein für das Aroma der Kirschen verantwortlich sei, hingewiesen. In der vorliegenden Arbeit konnte dieser Hinweis nicht bestätigt werden. Vielmehr konnte nachgewiesen werden, daß das typische Kirschenaroma durch die Mischung einer großen Anzahl von Substanzen erhalten wird.

Außerdem beschrieben E. K. NELSON und A. L. CURL (5) im Kirschenaroma eine rosenähnlich duftende Verbindung: Geraniol. Da Geraniol trotz intensiver Nachforschungen nicht nachgewiesen werden konnte, muß angenommen werden, daß diese Substanz mit 2-Phenylaethanol(1)(Abb. 6, Peak 11) oder dem in Fraktion V beschriebenen 2-Phenyl-aethylbenzyl-aether verwechselt wurde.

Neben dem 2-Phenylaethanol-(1), dem Aromastoff der Rose (22, 23), wurde in dieser Fraktion auch 2-Phenylaethylacetat nachgewiesen (Abb. 6, Peak 14).

Von besonderem Interesse waren in dieser Fraktion die Massenspektren von Heptandion-2. 3 und 1-Phenyl-propandion, obwohl zumindest die erste Verbindung zur Entstehung des Rohbuketts nicht wesentlich beiträgt:

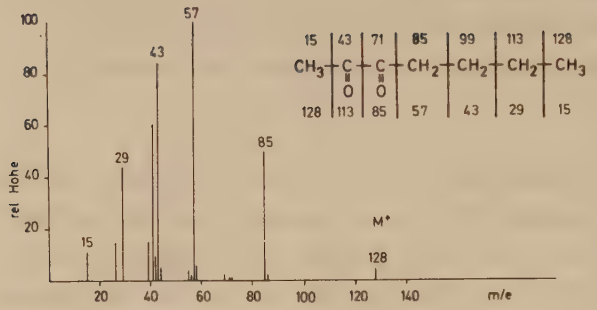


Abb. 4: Massenspektrum von Heptandion-2. 3

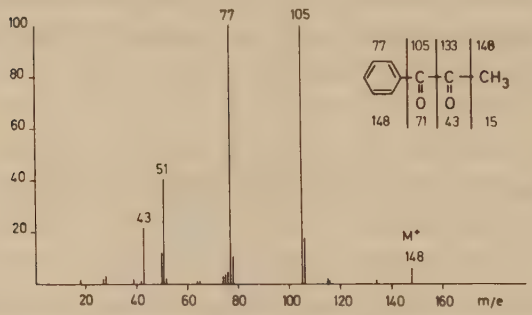


Abb. 5: Massenspektrum von 1-Phenyl-propandion

Abschließend sei erwähnt, daß diese Fraktion durch ihren hohen Gehalt an Benzaldehyd und Benzylalkohol sowie durch die Anwesenheit von iso-Amylacetat, Benzylacetat, 2-Phenylaethanol (1), 2-Phenylaethylacetat, Linalool und α-Terpineol sehr wesentlich zum Rohbukett beiträgt.

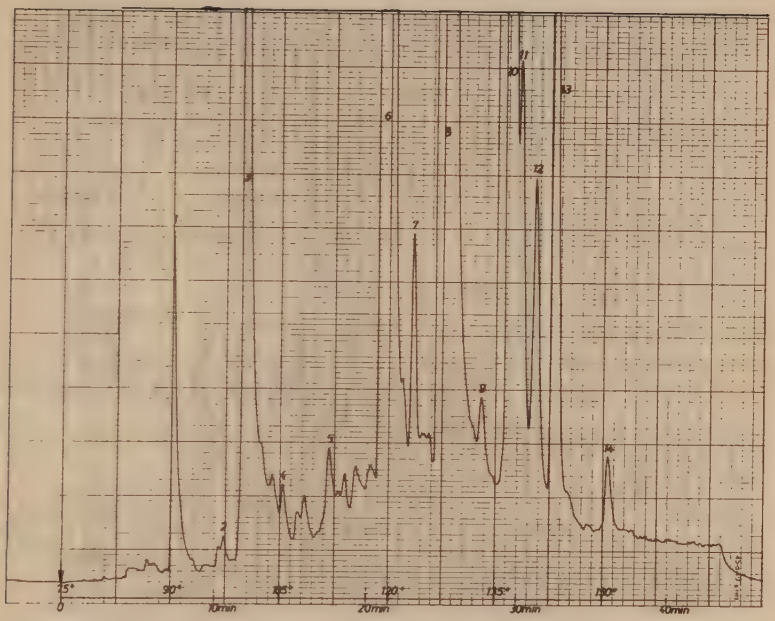


Abb. 6: Gaschromatogramm der Fraktion II der Grobtrennung.
Varian Aerograph Model 1520, Säule L(4m), Einspritzmenge: 2.0 µl, Temperaturprogramm: 75 - 150° C, Trägergas: 60 ml He/min.

3.1.2.3. Fraktion III

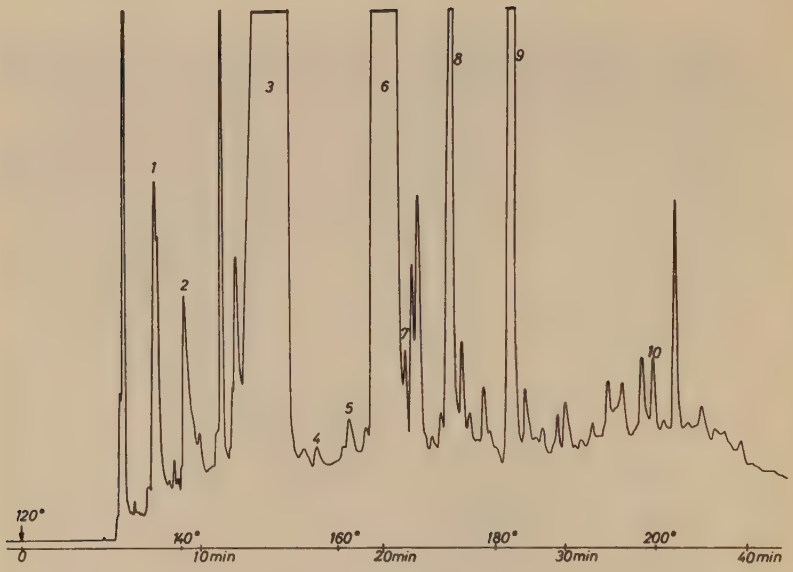


Abb. 7: Gaschromatogramm der Fraktion III
LKB 9000. Säule 150 m SF 96 Kapillar-Säule,
Einspritzmenge: 2.0 µl, Temperaturprogramm:
120 - 200° C, Trägergas: 18 ml He/min.

Diese Fraktion wurde hauptsächlich gebildet aus Substanzen, die einen sehr starken Eigengeruch haben:

Peak		Peak	
1	Benzaldehyd	4	4-Äthyl-guajacol
2	Benzylalkohol	6	Eugenol
3	Caprylsäure	8	Cumarin

Schon bei der organoleptischen Prüfung der Kühlfalle konnten Benzaldehyd und Eugenol, dessen Massenspektrum in der

Abb. 8 gezeigt wird, sofort erkannt werden. Bei der Re - konstruktion des Aromas konnte festgestellt werden, daß Eugenol für die richtige Beschreibung der Duftkomposition unbedingt erforderlich ist.

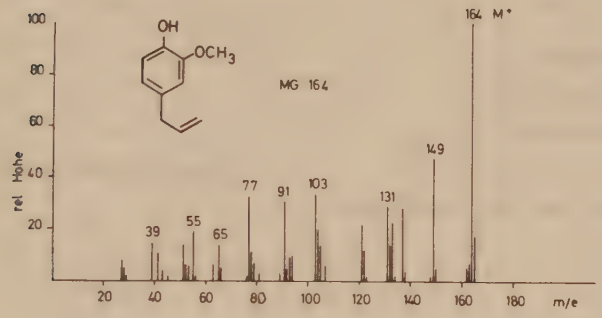


Abb. 8: Massenspektrum von Eugenol

Der Peak 3 in Abb. 7 wird unter anderem auch von Caprylsäure hervorgerufen, obwohl die Säuren vor Beginn der Grobtrennung abgetrennt wurden. Bei der Abtrennung der Säuren mit Natriumhydrogencarbonat wurde das Reagenz dem Aromakonzentrat in nur sehr kleinen Mengen zugesetzt, um Veränderungen im Konzentrat durch Alkali zu vermeiden. Außer der Caprylsäure wurde in keiner Fraktion der Grobtrennung eine freie Säure angetroffen. Die unvollständige Abtrennung der Caprylsäure war ein Hinweis auf das Vor - kommen in größeren Mengen. Dieser Hinweis konnte bei der Bestimmung der freien Säuren (s. Abschnitt 3. 3.) bestätigt werden.

W. WINDISCH (24) gibt für eine von ihm untersuchte Kirsch - maische, die aus den "Merises " genannten, schwarzen,

wilden Vogelkirschen gewonnen wurde, eine erstaunliche Anzahl von identifizierten Substanzen, darunter auch Caprylsäure, an. In der folgenden Übersicht sollen die von K. WINDISCH (A) und die in der vorliegenden Arbeit (B) identifizierten Substanzen verglichen werden:

A	B
Aethylalkohol	-
n-Propylalkohol	-
iso-Butylalkohol	+
Amylalkohol	(iso-Amylalkohol)
Glycerin und Isobutylenglykol	-
Acetaldehyd	-
Acetal	7 Acetale
Benzaldehyd	+
Furfurol	+
Ameisensäure	-
Essigsäure	-
n-Buttersäure	+
Capronsäure	+
Caprylsäure	+
Caprinsäure	+
Palmitinsäure(?)	+
Benzoesäure	+
Blausäure	-
Ameisensäureaethylester	-
Essigsäureaethylester	+
n-Buttersäureaethylester	-
Ester höherer Fettsäuren	+
Benzoesäureaethylester	+
Benzaldehydcyanhydrin	-
Neutrale, hochsiedende Bestandteile von angenehmem Geruche	(+)
Ammoniak	-

Schließlich sei das Vorkommen von Cumarin angeführt, welches in vielen Früchten nachgewiesen wurde (25) und welches, wie auch seine verschiedenen Derivate, sehr schnell an dem Massenspektrum durch eine auffällige Abspaltung von M - 28 (CO) aus dem o-haltigen heterocyclischen System erkannt werden konnte:

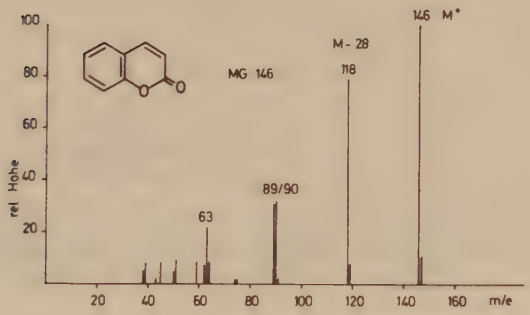


Abb. 9: Massenspektrum von Cumarin

3.1.2.4. Fraktion IV

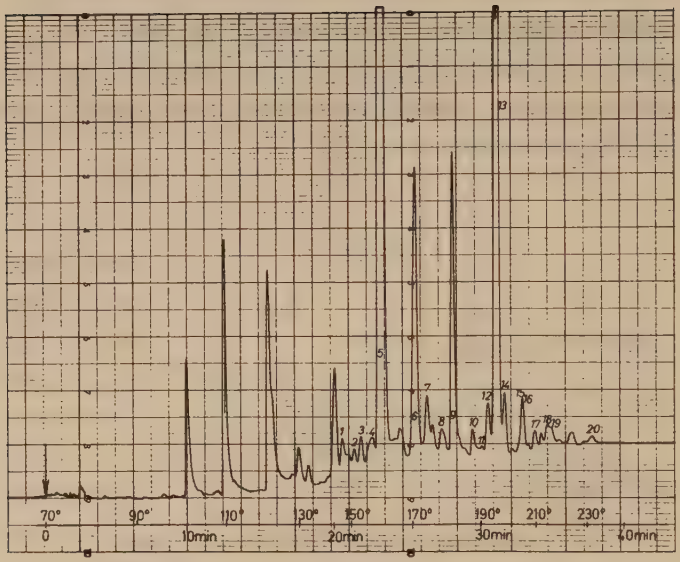


Abb. 10: Gaschromatogramm der Fraktion IV der Grobtrennung. LKB 9000, Säule L, Einspritzmenge: 0,5 µl, Trägergas 19 ml He/min.

Peak	
1	4-Aethylguajakol
2	Caprinsäureaethylester ein 3.8.8-Trimethyl-7.8-dihydronaphtalin
3	Benzoesäure-isobutylester
4	Caprylsäure-isoamylester
5	Eugenol
6	2.6-Ditert. butyl-4-methyl-phenol
7	Dihydrocumarin

8	Caprinsäure-isoamylester
9	Cumarin
1o	s. Text
11	Phthalsäure-diaethylester
12	s. Text
13	Dibenzylaether
14	Caprylsäure-benzylester
15	2. 6-Ditert, butyl-4-aethyl-phenol
16	2-Phenylaethyl-benzylaether
17	Caprylsäure-2-phenylaethylester
18	Benzoesäure-benzylester
19	Palmitinsäure-aethylester
2o	Phthalsäure-dibutylester

Diese Fraktion gibt nach dem organoleptischen Befund die Duftkomposition des unbearbeiteten Aromakonzentrates am besten wieder. Die Abtrennung von den Fraktionen II und III war nur sehr unvollkommen, wodurch das strenge Aroma verfeinert wurde. Die markanteste Übereinstimmung mit dem Gesamtaromakonzentrat KAF 67/1 zeigte der zweite Teil dieser Fraktion von Peak 6-2o, weswegen auf die Untersuchung dieses Sektors besonderer Wert gelegt wurde.

Da die gaschromatographische Trennung der im zweiten Teil der Abb. 1o gezeigten Substanzen auch auf Säulen mit sehr unterschiedlichen Phasen nicht immer möglich war, konnten die vielen aufgenommenen Massenspektren nicht restlos geklärt werden.

Besondere Schwierigkeiten verursachte die Identifizierung der in Abb. 1o, Peak 13 gezeigten Substanz aus ihrem

Massenspektrum (Abb. 11). Nach allen gesammelten massenspektrometrischen Erfahrungen mußte zunächst ein Aromat mit einer längeren aliphatischen Seitenkette ver - mutet werden:

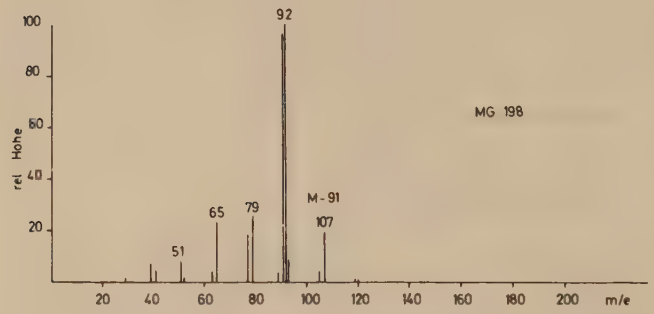


Abb. 11: Massenspektrum von Dibenzylaether

Das Massenspektrum dieser Substanz zeigt die für mono - alkylsubstituierte Aromaten charakteristischen Bruchstücke bei m/e = 91, 79, 77, 65, 51, 39 sehr deutlich, während oberhalb der Massenzahl 120 keine Signale durch Bruchstücke abgebildet werden. Ein Molekularpeak wird, in Analogie zum Massenspektrum des auch in dieser Fraktion identifizierten Benzoesäure-isobutylesters (s. Abb. 13) nicht abgebildet.

Für die Isolierung aus der Grobfraktion und damit zur Ge - winnung von weiteren Aussagen für die Identifizierung stand, wie bei allen weiteren Substanzen aus dieser Fraktion, bei weitem nicht genügend Substanz zur Verfügung, weswegen auf eine Feintrennung verzichtet werden musste. Durch Ver -

gleichssynthese konnte nachgewiesen werden, daß hier das Massenspektrum des Dibenzylaethers vorlag. Ver - gleichende Retentionszeiten auf unterschiedlichen Säulen und eine Mischeinspritzung sicherten den Beweis, daß die identifizierte Substanz mit der gesuchten identisch war. Die Synthese konnte durch ein NMR-Spektrum bewiesen werden.

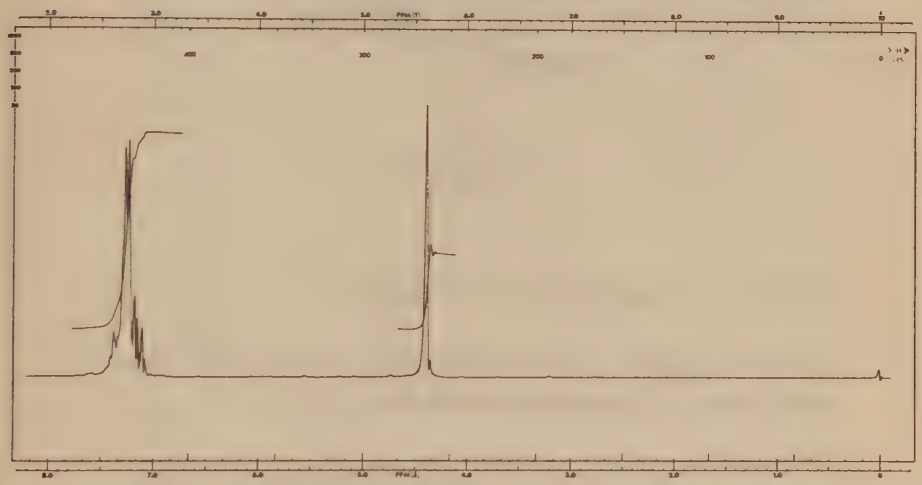
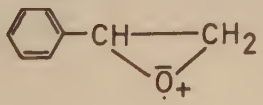


Abb. 12: NMR-Spektrum von Dibenzylaether

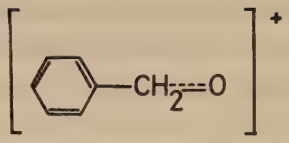
Vermutlich wird die Substanz in der folgenden Weise massenspektrometrisch abgebaut:

M^+ 198:

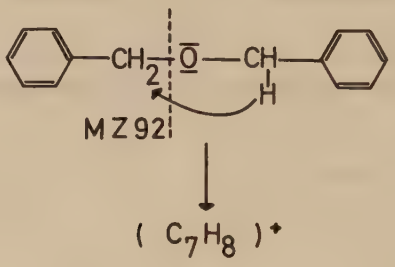
m/e 120: $M - C_6H_6$ ⟶ 

m/e 119: 120 − 1 H

m/e 107:



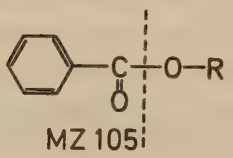
m/e 92:



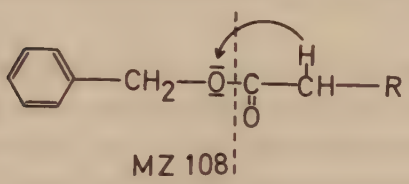
m/e 91: $(C_7H_8)^+ - 1H \rightarrow (C_7H_7)^+$

Geruchlich ist der Dibenzylaether wenig interessant und dürfte nur wenig zum Gesamtaroma beitragen.

Neben großen Mengen an freier Benzoesäure und freiem Benzylalkohol treten im Kirscharoma Ester auf, die entweder Benzoesäure oder Benzylalkohol als Komponente aufweisen. Welche Verbindung von beiden an der Esterbildung beteiligt ist, kann aus den Massenspektren sehr leicht erkannt werden: Während bei den Benzoesäureestern ein großes Signal bei der Massenzahl m/e = 105 durch die Spaltung



auftritt, zeigen die Ester mit Benzylalkohol als Esterkomponente ein entsprechendes Signal bei der Massenzahl m/e = 108 durch Abspaltung von



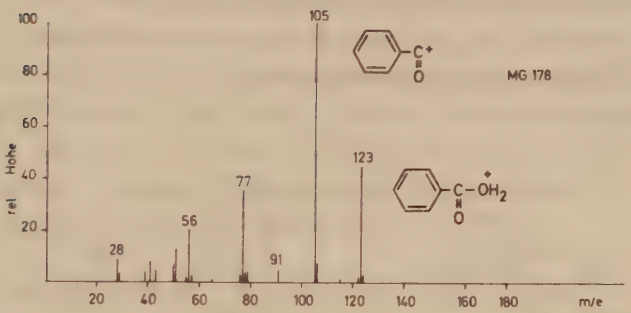


Abb. 13: Massenspektrum von Benzoesäure - isobutylester

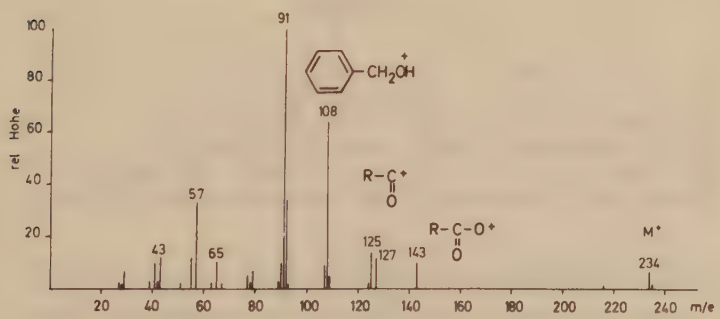
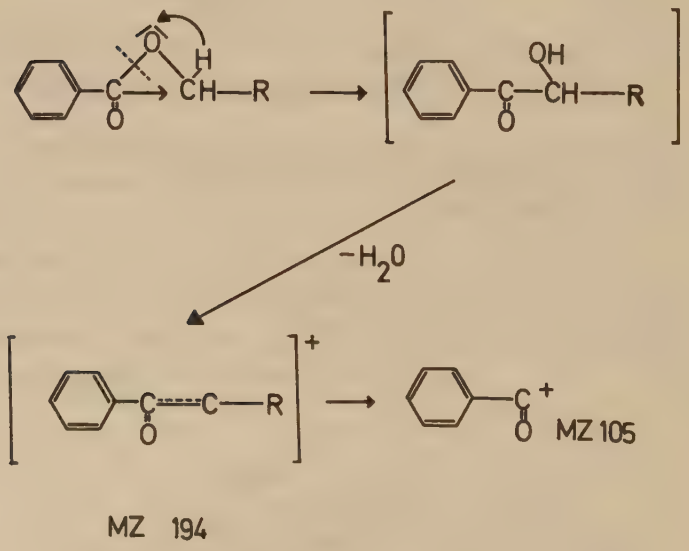


Abb. 14: Massenspektrum von Caprylsäure - benzylester

Die Kettenlänge der Säure ist am Beispiel des Caprylsäurebenzylesters leicht an m/e 143 = $R\text{-}CO\text{-}O^+$ und m/e 127 = $R\text{-}CO^+$ zu erkennen. Ausserdem wird, allerdings mit wachsender Kettenlänge kleiner, ein gut sichtbarer Molekularpeak erkenntlich.

Die Abb. 15 zeigt das Massenspektrum des Benzoesäure - benzylesters, der auch in den Kirschen gefunden wurde (s. Abb. 10, Peak 18). Das Massenspektrum zeigt neben den genannten, zu erwartenden Signalen überraschenderweise ein relativ in - tensives Signal mit der Massenzahl 194, welches durch eine Abspaltung von H_2O (M-18) aus dem Molekül hervorgerufen werden kann. Die Bruchstückbildung muß über folgende Zwischenstufen angenommen werden:



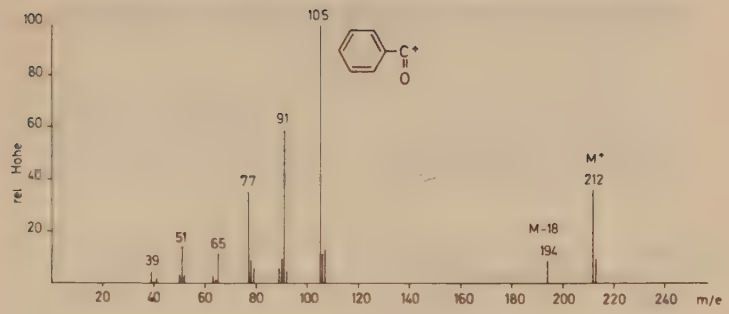


Abb. 15: Massenspektrum von Benzoesäurebenzylester

Geruchlich die weitaus interessanteste Substanz stellt der Peak 16 in Fraktion IV Abb. 10 dar. Die Identifizierung konnte auch hier, nachdem die Substanz auf einer SE 30 Säule von der Substanz 15 besser abgetrennt wurde, allein durch das Massenspektrum vorgenommen werden.

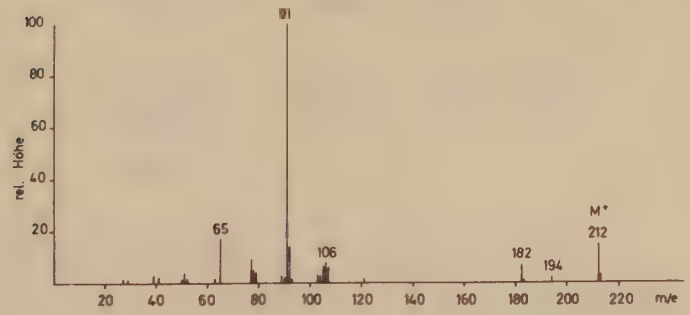
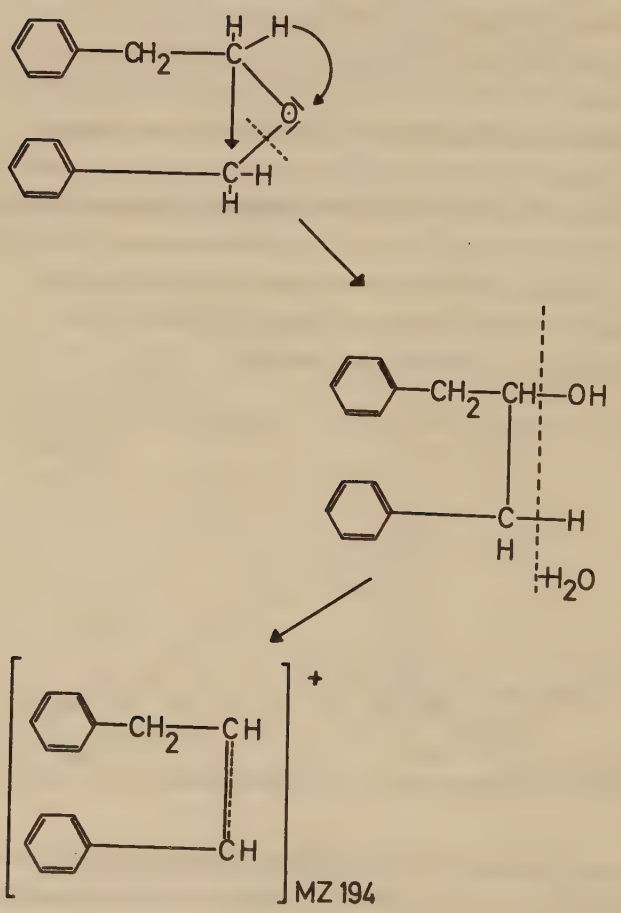


Abb. 16: Massenspektrum von 2-Phenylaethyl-benzylaether

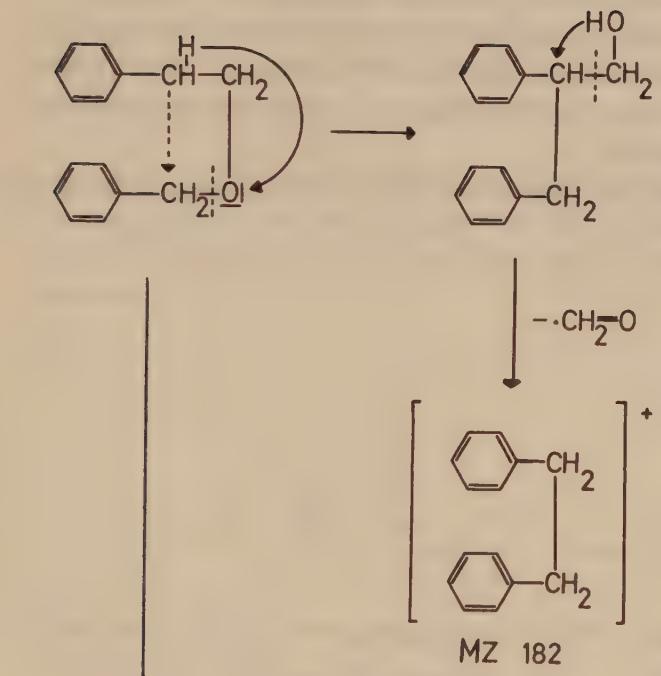
Der recht eigenartige Zerfall dieses Moleküls, für den in der bisher vorliegenden speziellen Literatur über massenspektro -

metrische Zerfallsprozesse (20. 26. 27. 28) keine Analogie gefunden werden konnte, wurde wie folgend angenommen:

m/e 194: M - 18 :



M - 30 :


H
CH
CH2
CH2
O
HO
CH
CH2
CH2
-·CH2=O
CH2
CH2
+
MZ 182
CH2
O
+
MZ 107
(C7 H7)+ MZ 91

Die Identität des 2-Phenyl-aethyl-benzyl-aethers, der durch eine Williamsson'sche Aethersynthese (29) aus dem Natriumalkoholat des 2-Phenylaethanol (1) und Benzylbromid in großer Reinheit dargestellt werden konnte, wurde durch das NMR- und IR-Spektrum, sowie durch Vergleich der Retentionszeiten auf verschiedenen Säulen bestätigt:

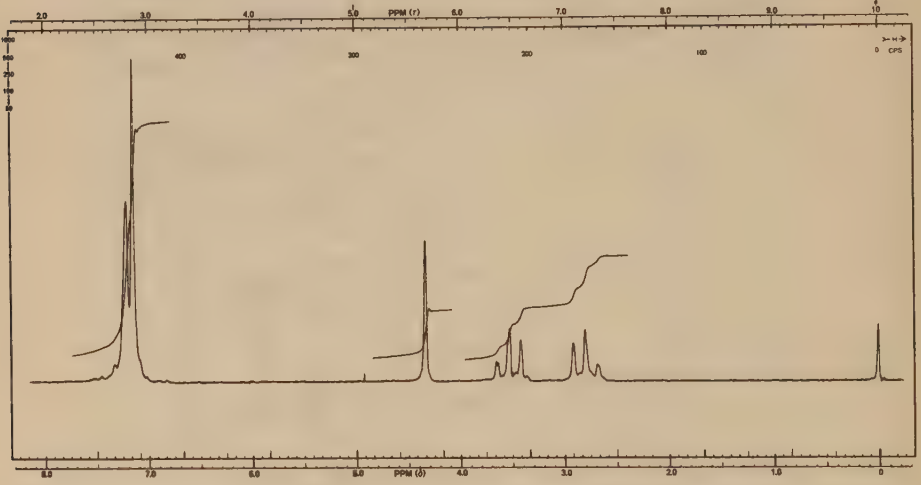


Abb. 17 : NMR-Spektrum 2-Phenylaethyl-benzylaether

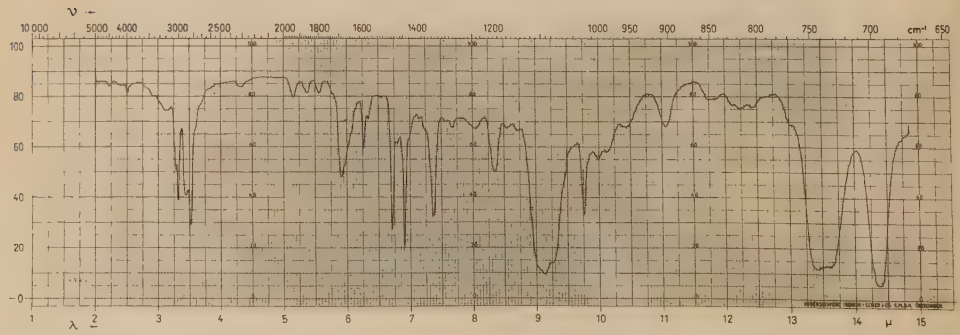


Abb. 18 : IR-Spektrum 2-Phenylaethyl-benzylaether

Die reine Substanz besitzt einen sehr angenehmen, an eine Mischung aus Rosen und Honig erinnernden Geruch. Im Untergrund ist ein dem Benzaldehyd ähnlicher Geruch wahrzunehmen. Trotz der geringen Menge, in der sie in dieser Fraktion gefunden wurde, hat sie einen wesentlichen Anteil am Gesamtaroma.

Zwei weitere Massenspektren sicherlich sehr interessanter Verbindungen, deren Struktur noch nicht bewiesen werden konnte, wurden von den Peaks 10 und 12 der Abb. 10 auf - genommen :

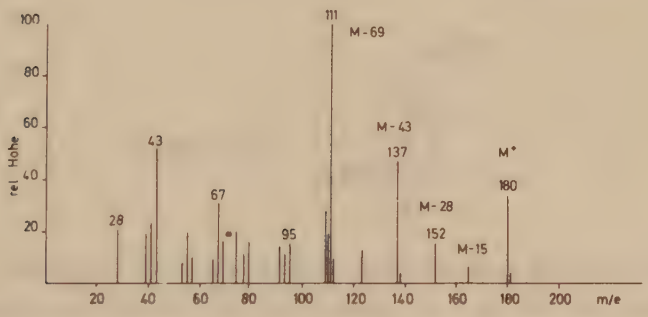


Abb. 19: Massenspektrum der Substanz 10, Abb. 10

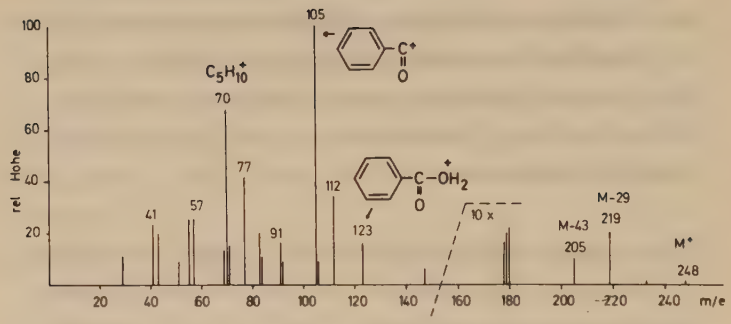
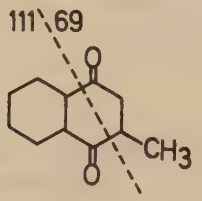


Abb. 20: Massenspektrum der Substanz 12, Abb. 10

Das Massenspektrum in Abb. 19 dürfte einer Verbindung mit der folgenden oder einer sehr ähnlichen Struktur zu - zuordnen sein:



MG 180

Aus der hier angenommenen Struktur wären die Fragmente bei m/e = 165, m/e = 152 und m/e = 111 (M-69) leicht inter - pretierbar. Schwierigkeiten würde allerdings die Zuordnung des Fragments bei m/e = 137 (M-43) bereiten. Weitere Aus - sagen, die zur Identifizierung dieser und auch der nachfolgend erläuterten Verbindung beitragen könnten, müßten nach erfolg- reicher Feintrennung und Isolierung und unter Verwendung anderer spektroskopischer Methoden gewonnen werden, was jedoch in Anbetracht der sehr geringen Substanzmenge in dieser Fraktion und auch im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich war.

Das Massenspektrum der Abb. 20 zeigt mit ziemlicher Sicherheit einen Ester der Benzoesäure (vgl. Abb. 13) mit einem verzweigten Alkohol der Größe C_9. Die großen Bruchstücke bei m/e = 70 und m/e = 112 werden vermutlich durch Umlagerungen ($C_5H_{10}^+$ und $C_8H_{16}^+$) hervorgerufen. Das relativ große Signal bei m/e = 219 dürfte die Verzweigungsstelle der aliphatischen Kette markieren.

3.1.2.5. Fraktion V

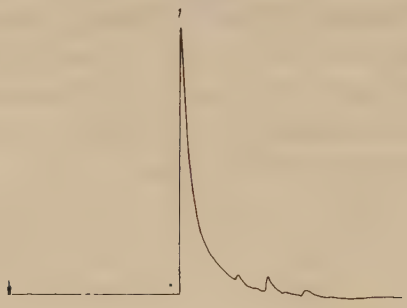


Abb. 21: Gaschromatogramm der Fraktion V.
LKB 9000, Säule: SF 96 Kapillarsäule,
Einspritzmenge 1.0 µl, Trägergas
19 ml He/min.

Im Gegensatz zu allen bisher beschriebenen Fraktionen wurde nach der Grobtrennung in der Kühlfalle der Fraktion V ein auch bei Zimmertemperatur festes, grobkristallines, braunschmutziges Salz mit einem sehr schwachen, aber angenehm cumarinähnlichen Geruch gefunden. Die gaschromatographische und massenspektrometrische Untersuchung ergab, daß der Inhalt dieser Kühlfalle, von geringfügigen Verunreinigungen (Phtalsäureester) abgesehen, im wesentlichen aus nur einer Komponente bestand, von der das Massenspektrum der Abb. 22 aufgenommen werden konnte:

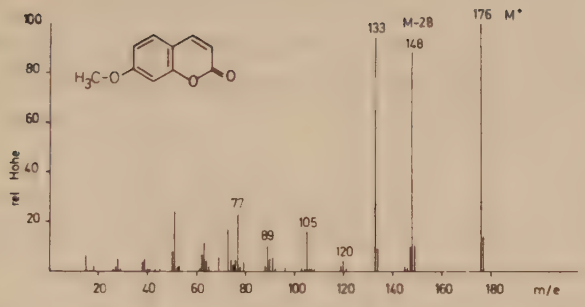


Abb. 22: Massenspektrum von 7-Methoxycumarin

Da nach dem Massenspektrum die Vermutung sehr nahe lag, daß hier ein Lakton vom Cumarintyp vorlag, wurden zunächst einfacher zugängliche Cumarinderivate mit einem Molekulargewicht von 176 hergestellt und ihre Massen - spektren ausgewertet.

Um zu zeigen, welchen Einfluß die unterschiedliche Stellung eines Substituenten an einem Molekül auf den massenspektro - metrischen Zerfall hat, sollen an dieser Stelle die bisher un - veröffentlichten Massenspektren von 7-Hydroxy-4-methylcumarin und 4-Methoxycumarin gezeigt werden:

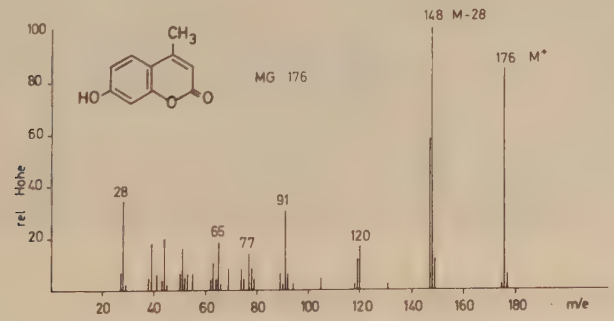


Abb. 23: Massenspektrum von 7-Hydroxy-4-methylcumarin

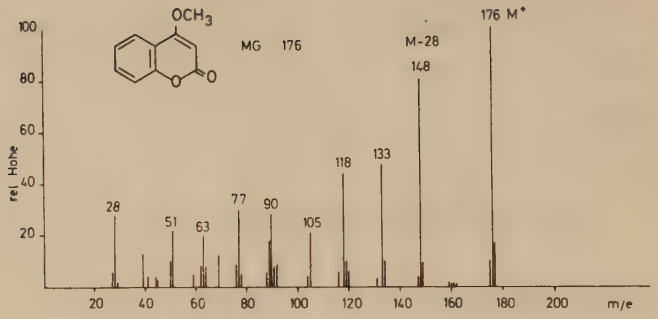


Abb. 24: Massenspektrum von 4-Methoxycumarin

Die Substanz der Fraktion V wurde in n-Pentan von -20° C ausgewaschen. Für die Aufnahme von IR- und UV-Spektren und zur Bestimmung des Schmelzpunktes (114-115° C) stand genügend Substanz zur Verfügung (ca. 5 mg). Für die Auf - nahme eines NMR-Spektrums sowie für eine Elementar - analyse reichte die Substanzmenge nicht aus.

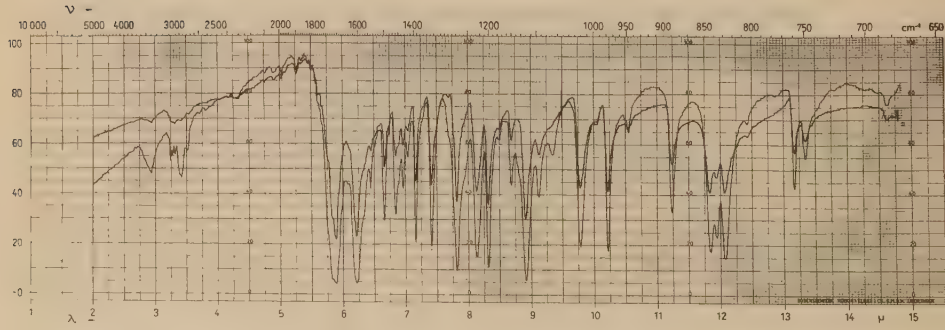


Abb. 25: IR-Spektrum 7-Methoxycumarin

----- synth., ——— isoliertes Produkt

Nach der UV-spektroskopischen Untersuchung wurde für die Lösung der Substanz in Methanol ein Absorptionsmaximum bei λmax. = 322.5 mμ gefunden. In Übereinstimmung mit diesem Wert geben T. NAKABAYASHI et al. (30) die Absorption für 7-Methoxycumarin an.

Für die Vergleichssynthese wurde von 7-Hydroxycumarin (= Umbelliferon) ausgegangen, das nach Methylierung mit Dimethylsulfat ein 7-Methoxycumarin lieferte. Das synthetische Produkt stimmte in allen Daten (Massenspektrum, Retentionszeit, IR-Spektrum, UV-Spektrum, Schmelzpunkt) mit der unbekannten Substanz überein. Erst nach Abschluß dieser Untersuchungen wurde ein Vergleichsspektrum von 7-Methoxycumarin in einer Veröffentlichung von C. S. BARNES und J. L. OCCOLOWITZ (31) gefunden.

Bei der Rekonstruktion des Rohbuketts nach der hier vorliegenden Analyse wurde festgestellt, daß das 7-Methoxycumarin trotz seines in reiner Form schwachen Eigengeruches einen sehr wesentlichen Anteil am Gesamtaroma hat.

Das Vorkommen von 7-Methoxycumarin wurde bereits in den verschiedensten Pflanzen und Pflanzenteilen nachgewiesen. Unter anderem konnte es in den Blättern des Bruchkrautes[+] (32. 33.), in den Blüten der Kamille (34), in Sonnenblumen (35) und im Lavendelöl (36) nachgewiesen werden.

[+]Bruchkraut, lat.: Herniaria; es ist offenbar, daß der Trivialname Herniarin = 7-Methoxycumarin hier seinen Ursprung hat.

Abschließend muß erwähnt werden, daß das 7-Methoxy - cumarin zusammen mit 6-Methoxy-7-hydroxycumarin (=Scopoletin) nach papierchromatographischer Bestimmung in den Herbstblättern von Kirschen und Pflaumen nachge - wiesen werden konnte (37). Für die Anwesenheit von 6-Methoxy-7-hydroxycumarin wurde auch in dieser Arbeit ein massenspektrometrischer Hinweis erzielt (s. Kap. 3.1.2.6), dem jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr nachgegangen werden konnte.

3.1.2.6. Fraktion VI

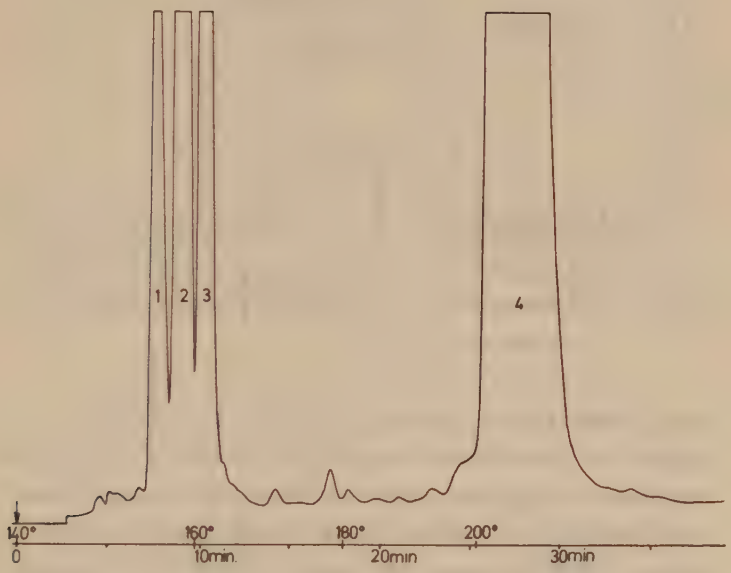


Abb. 26: Gaschromatogramm der Fraktion VI
LKB 9000, Säule 150 m SF 96 Kapillarsäule,
Einspritzmenge: 1.0 µl, Trägergas: 18 ml He/min.

Da diese Fraktion fast ausschließlich aus Verunreinigungen durch Weichmacher bestand, musste auf die eingehende Untersuchung verzichtet werden. Während die Peaks 1 - 3 in Abb. 26 Diaethyl- und Dibutylphthalate zeigen, besteht der Peak 4 in dieser Abb. zum allergrößten Teil aus Dioctylphthalat. Bei der massenspektrometrischen Untersuchung der Peaks 1 - 3 dieser Fraktion wurden jedoch Hinweise auf eine Substanz erhalten, die sicherlich zum Aroma gehört:

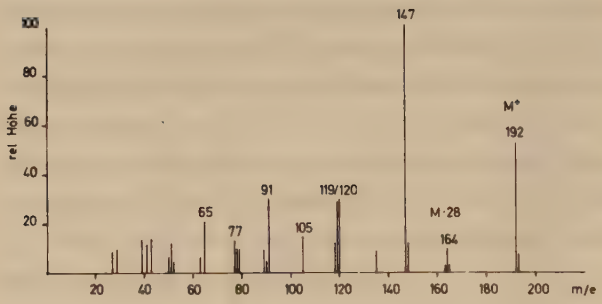
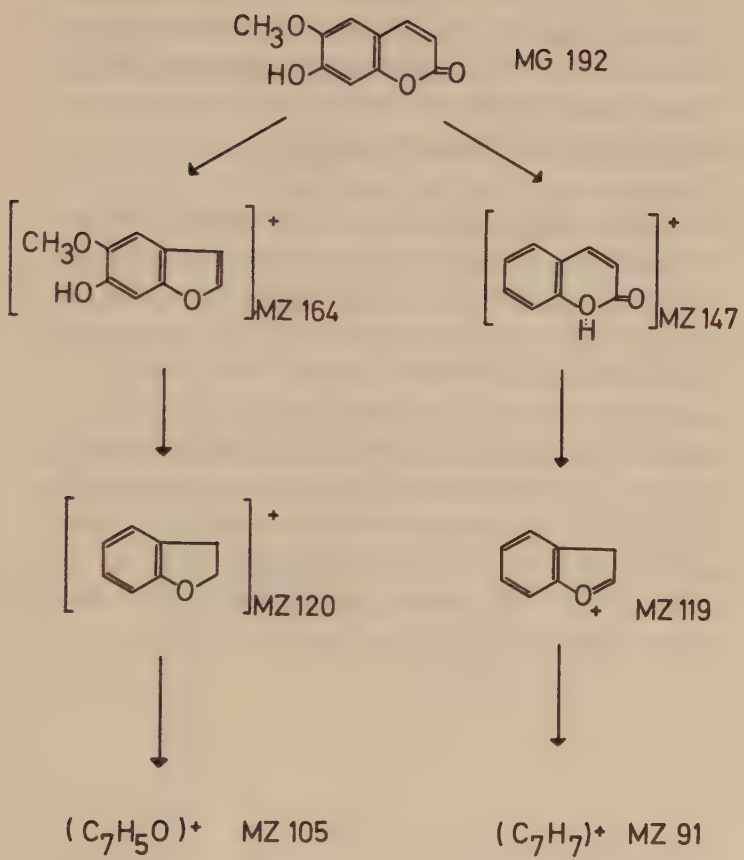


Abb. 27: Massenspektrum der durch ↓ gekennzeichneten Substanz in Abb. 33 b.

Da auf keiner der zur Verfügung stehenden gaschromato - graphischen Trennsäulen eine saubere Abtrennung von dem vorhergehenden 7-Methoxycumarin erzielt werden konnte, wurde versuchsweise ein Massenspektrum dieser Substanz nach Sub - traktion des Massenspektrums von 7-Methoxycumarin gewonnen. Es wurde schon bei der Untersuchung der Fraktion V darauf hingewiesen, daß zusammen mit 7-Methoxycumarin auch 6-Methoxy-7-hydroxycumarin (=Scopoletin) in den Herbstblättern von Kirschen gefunden wurde (37).

Das Massenspektrum der Abb. 27 lässt als Deutung den Zerfall von 6-Methoxy-7-hydroxycumarin zu. Der endgültige Beweis könnte allerdings nur durch die Vergleichssynthese erbracht werden. Der massenspektrometrische Abbau dürfte über folgende Zwischenstufen laufen:


CH3O
HO
O
O
MG 192
CH3O
HO
O
+
MZ 164
O
O
H
+
MZ 147
O
+
MZ 120
O
+
MZ 119
(C7H5O)+ MZ 105
(C7H7)+ MZ 91

3.2. Hydrierung

Zur Feststellung des Vorkommens von ungesättigten Verbindungen wurden 150 µl des Gesamtaromakonzentrates mit PtO_2/Methanol bei Normaldruck hydriert und erneut der organoleptischen Prüfung unterworfen.

Es konnte in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von E. WASER und G. MOSCA (19) festgestellt werden, daß sich das Aroma durch die Hydrierung stark verändert und nur noch sehr schwach wahrnehmbar ist. Die nachfolgende Untersuchung der hydrierten Substanz zeigte starke Veränderungen im Bereich der Fraktionen I, IV und V der Grobtrennung, in denen hauptsächlich Ketone, Diketone, Eugenol und Cumarinderivate gefunden werden. Auf die Bedeutung dieser Substanzen zur Beschreibung der Duftkomposition wurde bereits in den einzelnen Kapiteln hingewiesen. Für das Vorkommen von ungesättigten Fettsäureestern wurde kein Hinweis gewonnen (s. Abb. 33 e).

3.3. Bestimmung der Säuren

Die freien Carbonsäuren gehören zu den Inhaltsstoffen von Früchten, besonders der Sauerkirsche, und beeinflussen das Aroma in entscheidender Weise.

Für die gaschromatographische und massenspektrometrische Bestimmung wurden die Säuren von dem Aromakonzentrat KAF 67/1 in Form ihrer Natriumsalze abgetrennt. Nach Freisetzen und Veresterung mit Diazomethan konnten die entsprechenden Methylester leicht an ihren Massenspektren erkannt werden.

Alle geradzahligen, gesättigten Säuren von C_4 bis C_{16}, mit Ausnahme der Myristinsäure, und einige verzweigte Säuren konnten nachgewiesen werden:

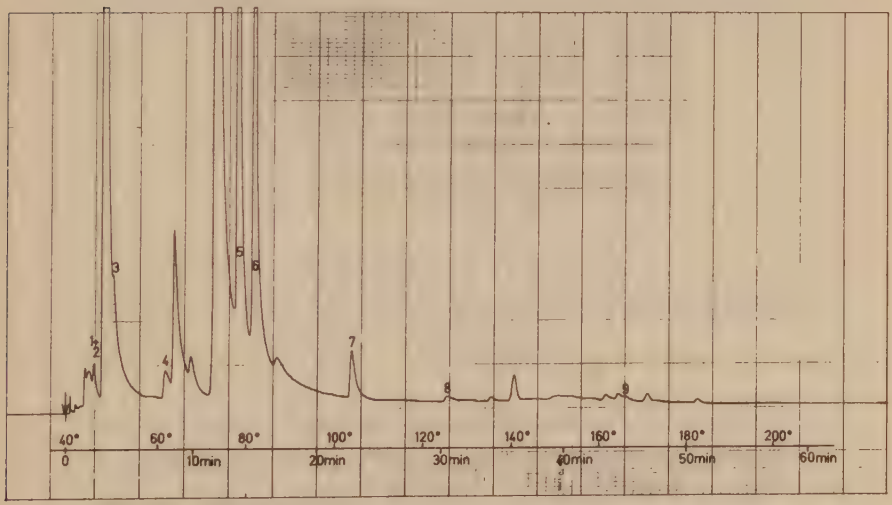


Abb. 28: Gaschromatogramm der freien Säuren nach Veresterung mit Diazomethan. Bedingungen: Varian Aerograph 1520, Säule M, Einspritzmenge: 0,5 µl Trägergas: 35 ml He/min.

Neben dem Aromakonzentrat stand zur weiteren Bestimmung der Säuren ein Kirschensirup zur Verfügung. Dieser Sirup, der ein pH von ca. 3 und den Geruch nach frischen Kirschen in höchster Reinheit zeigte, wurde mit Natriumhydrogen - carbonat gegen Phenolphthalein neutralisiert (pH = 8) und die Neutralbestandteile durch Extraktion mit einem Aether-Pentan-Gemisch entfernt. Der Rückstand wurde nach Ansäuern mit Schwefelsäure mit Aether extrahiert und die so gewonnenen Säuren in Aether mit Diazomethan verestert und der Analyse zugeführt.

Neben einem starken Hinweis auf große Mengen von Apfel - säure, die schon von J. WOLF (38) als vorherrschende Säure, allerdings in Süßkirschen, beschrieben wurde, und neben Malonsäure und Bernsteinsäure konnte nach diesem Verfahren nur Citronensäure mit Sicherheit nachgewiesen werden.

3.4. Untersuchung von Kirschenaroma-CO

Das wasserklare und wasserlösliche Kirschenaroma CO zeigte einen angenehmen, kirschenbranntweinähnlichen Geruch. Es wurde mit n-Pentan 14 Tage lang in einer Kutscher-Steudel Apparatur unter Erneuerung des Pentans extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden nach Konzentrierung analysiert.

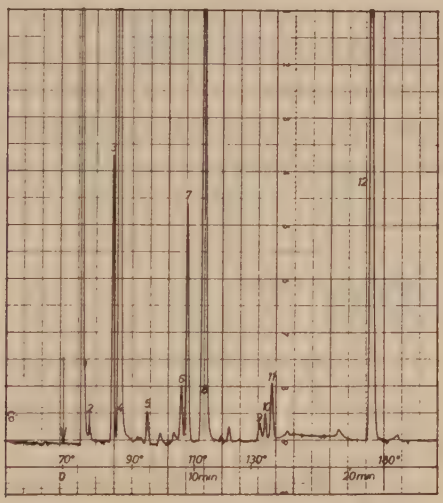


Abb. 29: Gaschromatogramm Kirschenaroma-CO.
LKB 9000, Säule P (4 m), Einspritzmenge: 1 µl,
Trägergas: 19 ml He/min.

Neben den Hauptkomponenten iso-Amylalkohol und Benzaldehyd (Peak 8 und 12) bestand diese Fraktion hauptsächlich aus den verschiedensten Acetalen, die anhand ihrer Massenspektren erkannt wurden.

Durch Retentionszeitenvergleich mit bekannten Acetalen wurde zunächst die C-Zahl des unbekannten Acetales ermittelt. Danach konnte aus dem jeweiligen Massenspektrum die Größe der Alkoholkomponente, z. B. durch die auftretenden Bruchstücke bei m/e = 57 für iso-Butanol und m/e = 71 für iso-Amylalkohol, sehr schnell bestimmt werden. Trotzdem wurden die nicht zur Verfügung stehenden Acetale ausnahmslos für vergleichende Retentionszeiten synthetisiert. Allerdings wurde das entstehende Gemisch, welches nach der Synthese aus dem überschüssigen Aldehyd, den beiden Alkoholkomponenten, den einheitlichen Acetalen und aus den gemischten Acetalen bestand, aus Zeitgründen und, da es ohnehin auf der Säule getrennt wurde, nicht mehr gereinigt. Drei Massenspektren seien als Beispiel hier abgebildet:

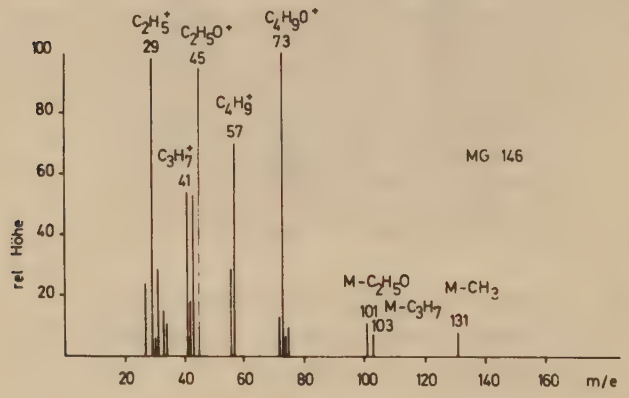


Abb. 30: Massenspektrum von Acetaldehyd-aethyl-isobutyl-acetal

Massenspektrum von Acetaldehyd-methyl-aethyl-acetal:
MG 104, (Die Zahlen in Klammern geben die relativen Intensitäten an):

m/e					
	27(23)	29(42)	31(39)	33(11)	42(5)
	43(51)	45(100)	46(3)	58(8)	59(95)
	60(5)	61(45)	72(16)	73(44)	74(2)
	75(5)	89(38)	90(2)	103(2)	

Massenspektrum von Acetaldehyd-di-isoamylacetal MG 202:

m/e					
	27(17)	29(27)	31(12)	39(13)	41(41)
	42(22)	43(100)	45(9)	55(42)	56(12)
	57(15)	70(30)	71(58)	72(4)	99(3)
	114(4)	115(20)	145(1)	187(3)	

Ausserhalb dieser Fraktion konnten in den Aromakonzentraten keine Acetale nachgewiesen werden.

4.1 Zusammenstellung der identifizierten Substanzen

Im Ganzen konnten etwa 75 Substanzen identifiziert werden. Die folgende Zusammenstellung enthält neben den Angaben der Fraktionen, aus denen die Substanzen aufgeklärt wurden, auch quantitative Angaben. Diese quantitativen Angaben sind naturgemäß sehr grob und zum Teil geschätzt, da in einem Übersichtschromatogramm bei weitem nicht alle Substanzen zugeordnet und die entsprechenden Quantitäten nicht aus den Peakflächen berechnet werden konnten.

ESTER

MG		%	Frakt.
130	Capronsäuremethylester	0.79	II 3
228	Tridecansäuremethylester	0.06	IV
270	Palmitinsäuremethylester	0.63	IV
136	Benzoesäuremethylester	0.32	II 9
88	Essigsäureaethylester	5.3	I 3
144	Capronsäureaethylester	0.13	IV 2
200	Caprinsäureaethylester	0.64	IV
228	Laurinsäureaethylester	0.13	IV
256	Myristinsäureaethylester	0.07	IV
284	Palmitinsäureaethylester	0.05	IV 19
150	Benzoesäureaethylester	1.33	II
222	Phthalsäurediaethylester	0.11	IV 11
178	Benzoesäureisobutylester	0.08	III 5, IV 3
116	Ameisensäureisoamylester	0.48	
130	Essigsäureisoamylester	0.11	II 3
214	Caprylsäureisoamylester	0.67	IV 4

242	Caprinsäureisoamylester	0.05	IV 8
150	Essigsäurebenzylester	0.6	II 12
164	Propionsäurebenzylester	0.79	IV
234	Caprylsäurebenzylester	0.2	IV 14
212	Benzoesäurebenzylester	0.05	IV 18
164	Essigsäure-2-phenylaethylester	0.20	II 14
248	Caprylsäure-2-phenylaethylester	0.06	IV 17

SÄUREN

88	n-Buttersäure	0.28	
88	iso-Buttersäure	0.28	
102	α-Methylbuttersäure	0.4	
116	Capronsäure	0.4	
144	Caprylsäure	3.17	
172	Caprinsäure	1.74	
200	Laurinsäure	0.21	
256	Palmitinsäure	0.37	
284	Stearinsäure	0.12	
192	Citronensäure		
122	Benzoesäure	4.75	

TERPENALKOHOLE

154	α-Terpineol	0.51	II 10
154	Linalool	1.17	II

ALKOHOLE

74	iso-Butanol	0.4	I
88	iso-Amylalkohol	31.7	I 7

102	n-Hexanol		II 3
108	Benzylalkohol	10.78	II 8, III 2
122	2-Phenylaethanol(1)	1.84	II 11

CARBONYLVERBINDUNGEN

86	Pentanon-2	0.13	I 4
86	Diacetyl	0.68	I 2
100	Pentandion-2.3	0.18	I 5
128	Heptandion-2.3	0.02	II 2
148	1-Phenyl-propandion	1.81	II 13
120	Acetophenon	0.13	II
96	Furfural	0.12	II 4
106	Benzaldehyd	9.5	II 6

AETHER

198	Dibenzylaether		IV 13
212	2-Phenylaethyl-benzylaether	0.08	IV 16
176	7-Methoxycumarin	3.92	V 1

PHENOLE

164	Eugenol	3.28	III 6
164	iso-Eugenol	0.25	III 7
152	4-Aethylguajacol	0.05	III 4
220	2.6-Ditert. butyl-4-methyl-phenol		III 9

VERSCHIEDENE I

86	n-Hexan	-	CO 1
100	n-Heptan	-	CO 2
172	ein 3.8.8 Trimethyl-7.8-dihydro-naphthalin	0.19	IV 2

92	Toluol	0.4	II
146	Cumarin	0.53	III 8, IV 9
148	Dihydrocumarin	0.3	IV 7

ACETALE

104	Acetaldehyd-methyl-aethyl-acetal	CO 3
118	Acetaldehyd-diaethyl-acetal	CO 4
146	Acetaldehyd-aethyl-isobutyl-acetal	CO 5
160	Acetaldehyd-aethyl-isoamyl-acetal	CO 6
160	Acetaldehyd-aethyl-n-amylacetal	CO 7
202	Acetaldehyd-di-n-amyl-acetal	CO 11
202	Acetaldehyd-di-iso-amyl-acetal	CO 10

VERSCHIEDENE II

208	2.4-Tert-butyl-o-oxytolyl-aethanol	
234	2.6-Ditert. butyl-4-aethyl-phenol	IV 15
250	3-Methoxy-2.6-ditert. butyl-4-methyl-phenol	III 10
278	Phthalsäuredibutylester	IV 20

In der Gruppe Verschiedene II sei noch eine weitere Gruppe von Substanzen erwähnt, die aller Wahrscheinlichkeit nach aus der Verunreinigung des Aromakonzentrates mit Weichmachern stammt, denn in der zweiten Charge der ersten Aufarbeitung (KAF 67/2) konnten diese Substanzen nicht nachgewiesen werden. Die Unter - suchung wurde nur massenspektrometrisch vorgenommen; d. h. die von diesen Substanzen aufgenommenen Massenspektren wurden lediglich mit denen einer vorliegenden Massenspektrensammlung verglichen. Auf weitere Identitätsnachweise wurde verzichtet.

Der oben genannte Phthalsäurediaethylester und 2. 6 - Ditert. butyl-4-methylphenol, welches als Antioxidans Verwendung findet, dürften wahrscheinlich auch an nur dieser Stelle genannt werden.

Bei allen anderen genannten Substanzen konnte die Identität durch Beschaffung oder Synthese der Vergleichs - substanzen und damit durch Vergleichsmassenspektren festgestellt werden. Ferner konnte die Identität durch Ver - gleich der Retentionszeiten- z. T. auf Säulen mit unter - schiedlichen Phasen- und in einzelnen Fällen auch durch IR- und NMR-Spektren gesichert werden. Vermutungen oder Hinweise für weitere Substanzen wurden im Text diskutiert.

4. 2. Quantitative Berechung der Zusammensetzung des Kirschenaroma-Extraktes

Wie bei der Analytik, so wurde auch bei der quantitativen Berechnung des Kirschenaromaextraktes ausgegangen vom fermentierten Extrakt. Bei dieser Aufarbeitung waren 950 kg Kirschensaft eingesetzt und ein Aromakonzentrat von 25. 5 g erhalten worden (= 0. 002685 % Aroma). Die Kirschensaftausbeute aus den Frischfrüchten betrug in allen Fällen ca. 78 - 80 %. Da diese Aufarbeitung Verun - reinigungen enthielt, wurde zunächst der prozentuale An - teil gaschromatographisch bestimmt:

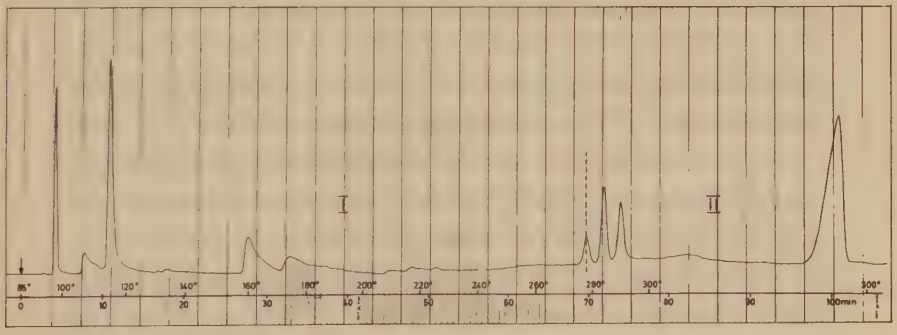


Abb. 31: Gaschromatogramm KAF 67/1 (Quantitative Berechnung)
Varian Aerograph 1520
Säule D , Einspritzmenge: 15 µl
Trägergas: 60 ml He/min

Fraktion I (Peakfläche) = 33. 56 cm^2 = 54. 5 %

Fraktion II (Peakfläche der Verunreinigungen)

= 28. 02 cm^2 = 45. 5 %

(Alle quantitativen Angaben wurden durch Berechnung der Peakflächen ermittelt).

Die Ausbeute aus der zweiten Charge, die keine Verunreinigungen enthielt, wurde mit 0. 00144 % angegeben. Legt man eine mittlere Verunreinigung von 46 % zu Grunde, so lässt sich der Anteil des Aromaextraktes für die erste Aufar - beitung mit 13. 77 g errechnen. Berechnet auf die Peak - fläche des reinen Aromas zeigte der Peak des iso-Amyl- alkohols einen Anteil von 31. 7 %. Bezogen auf das Ausgangs- produkt in Höhe von 950 kg Kirschsaft entspricht das einem Anteil von 4. 6 ppm. In der vorgenannten Tabelle sind alle quantitativen Angaben bezogen auf iso-Amylalkohol = 31. 7 %.

Da die quantitative Verteilung der einzelnen Substanzen sehr unterschiedlich ist (iso-Amylalkohol: Heptandion-2. 3 = 1000 : 0. 6), sollten diese Angaben nicht überbewertet werden. Dennoch muß gesagt werden, daß zur Rekonstruktion des Kirschenaromas von diesen Mengen ausgegangen und gute Übereinstimmung mit dem Geruch des Aromakonzentrates KAF 67/1 erreicht wurde.

5. Rekonstruktion des Kirschenaromas

Besondere Schwierigkeiten für die quantitative Rekonstruktion waren gegeben durch die Tatsache, daß die Ansprechbarkeit der verwendeten Detektoren, wie zum Beispiel die des "Total-Ionisation-Current" des benützten LKB Gerätes, als auch die der Flammenionisationsdetektoren der eingesetzten Gaschromatographen nicht unwesentlich von der Ionisierbarkeit der einzelnen Substanz abhängt. Um diese Schwierigkeiten zu umgehen, müßte eigentlich von jeder einzelnen der identifizierten Substanzen die Abhängigkeit der aufgegebenen Menge von dem Flächenintegral des zugehörigen Peaks ermittelt und danach die quantitative Bestimmung vorgenommen werden, was aber verständlicherweise im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich war.

Die markanteste und von fast allen Arbeitskreisen, die sich mit der Analytik des Aromas von Kirschen beschäftigten, erwähnte Substanz ist der Benzaldehyd. Nach Hinzumischen der im zweiten Teil der Fraktion IV genannten Substanzen und ausserdem der Substanzen iso-Amylalkohol, Essigsäureaethylester, Benzylalkohol, Eugenol, α-Terpineol, Linalool, iso-Amylacetat, Pentandion-2.3, Pentanon-2, Essigsäurebenzylester, 1-Phenyl-propandion, Cumarin und 7-Methoxycumarin wurde bereits ein sehr ansprechendes Rohbukett erhalten. Auf die Bedeutung der in geringeren Mengen vorkommenden Substanzen wurde im Verlaufe der einzelnen Kapitel verwiesen. Unbedingt erwähnt werden muß noch, daß die Addition der freien Säuren sehr wesentlichen Einfluß auf die Abrundung des Gesamtaromas hat. Die Abb. 32 zeigt das Gaschromatogramm der rekonstruierten Mischung, wobei die

Hauptmengen gebildet wurden durch:

Peak

1	Essigester	6	1-Phenyl-propandion
2	iso-Amylalkohol	7	Eugenol
3	iso-Amylacetat	8	Cumarin
4	Benzaldehyd	9	2-Phenylaethyl-benzylaether
5	Benzylalkohol	10	7-Methoxycumarin

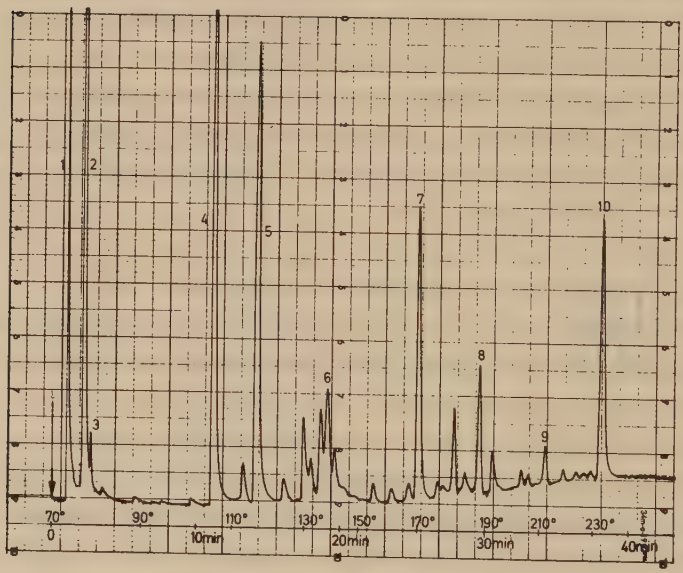


Abb. 32: Gaschromatogramm der rekonstruierten Mischung des Kirschenaromas
Trennbedingungen: LKB 9000, Säule L (2 m),
Einspritzmenge: 0,4 µl, Trägergas: 18.5 ml He/min.

6. Experimenteller Teil

6.1 Gas-Chromatographie

Für die Aufnahme der vielen Gaschromatogramme, von denen in der vorliegenden Arbeit nur ein sehr geringer Teil abgebildet werden konnte, wurden die folgenden Geräte und präparativen (A - D) und analytischen (E - P) Säulen benutzt:

Gas Chromatograph - Mass Spectrometer
LKB Typ 9000 Analyzer Unit
LKB Produkter AB Stockholm Bromma 1 Sweden (analytisch)

Perkin-Elmer Fraktometer F 6 (analytisch)

Varian Aerograph Model 1520 (analytisch und präparativ)

Aerograph
Autoprep Model A-700 (präparativ)

SÄULEN

	Belegung	%	Träger	Korngröße mm mesh	Länge m	Material	ø mm
A	SE 30	10	Kieselgel	0,2-0,215	3,5	Cu	10
B	SF 96	10	Chromosorb W.	60/80	3,5	Stahl	6
C	APIEZON L	20	Kieselgel	0,2-0,215	6,0	Cu	10
D	OV 17	10	Chromosorb P. A. W.	60/80	3,0	Cu	10
E	SF 96	Kapillare			500 ft.	Stahl	0,08
F	APIEZON M	Kapillare			500 ft.	Stahl	0,08
G	SE 30	Kapillare			50	Stahl	0,25
H	PPG	Kapillare			50	Stahl	0,25
I	DC 550	Kapillare			50	Stahl	0,25
K	SE 30	5	Chromosorb P. A. W.	60/80	1,5	Stahl	1/8 "
L	OV 17	10	Chromosorb P. A. W.	60/80	2 m, 4 m, 6 m	Cu	1/8 "
M	SE 30	10	Chromosorb P. A. W.	60/80	2,0	Cu	1/8 "
N	SE 30	5	Chromosorb P. A. W.	60/80	3,0	Cu	1/8 "
O	OV 1	5	Chromosorb P. A. W.	60/80	4,0	Cu	1/8 "
P	DAEGS	20	Chromosorb P. A. W.	60/80	4,0	Cu	1/8 "

Die Bedingungen für die Aufnahme der Chromatogramme, die im Text abgebildet sind, waren, soweit es nicht schon angegeben wurde, bei

Abb. 1 und 2:
Einspritzblock: 260° C, Detektor: 250° C, Empfindlichkeit: 1/4, Papiervorschub: 1/3 inch/min., Wärmeleitfähigkeitsdetektor, Filament: 180 mA.

Abb. 3:
Einspritzblock: 230° C, Ionenquelle: 290° C, Separator: 240° C, Empfindlichkeit: 2, Detektor: TIC. +

Abb. 6:
Einspritzblock: 270° C, Detektor: 260° C, FID, Empfindlichkeit 1/2

Abb. 7:
Einspritzblock 230° C, Ionenquelle: 190° C, Separator: 240° C, Empfindlichkeit: 2, Detektor: TIC.

Abb. 10:
Einspritzblock: 250° C, Ionenquelle: 290° C, Separator: 240° C, Empfindlichkeit: 2, Detektor: TIC.

+Für alle mit dem LKB 9000 aufgenommenen Gaschromatogramme wurde das Detektorsignal durch Messung des Totalionenstromes nach der Ionisierung der Moleküle gewonnen (Total Ionisation Current = TIC). Die Beschleunigungsspannung (3.5 kV) und die Vervielfachungsspannung (1.7 kV) blieb sowohl bei der Aufnahme aller Gaschromatogramme als auch der Massenspektren konstant.

Abb. 21:
Temperatur: 190° C isotherm, Einspritzblock: 345° C, Ionenquelle: 290° C, Separator: 240° C, Empfindlichkeit: 2, Detektor: TIC.

Abb. 26:
Temperatur: 140-200° C, Einspritzblock: 290° C, Ionenquelle: 290°, Separator: 240° C, Empfindlichkeit: 2, Detektor: TIC.

Abb. 28:
Temperatur: 40-200° C, Einspritzblock: 230° C, Detektor: FID, 245 ° C, Empfindlichkeit: 10/4

Abb. 29:
Temperatur: 70-180° C, Einspritzblock: 200° C, Ionenquelle: 290° C, Separator: 240° C, Empfindlichkeit: 2, Detektor: TIC.

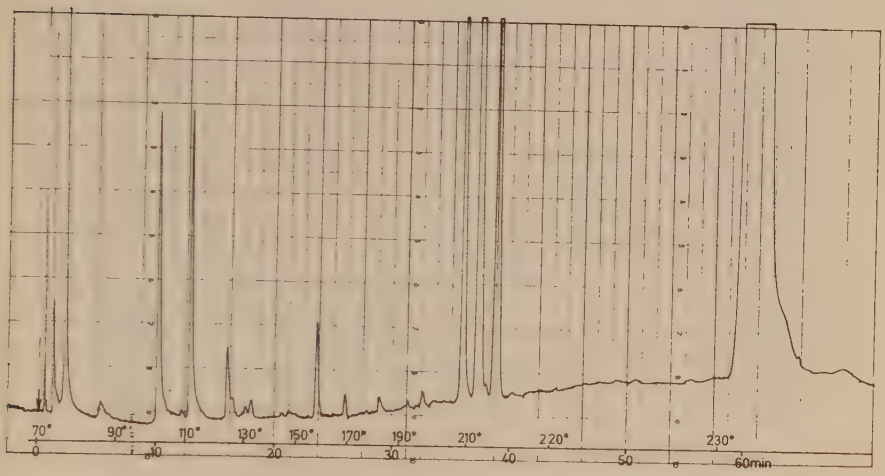
Abb. 31:
Temperatur: 85-300° C, Einspritzblock: 320° C, Wärmeleitfähigkeitsdetektor 310° C, Filament: 150 mA, Empfindlichkeit: 16

Abb. 32:
Temperatur: 170-230° C, Einspritzblock: 250° C, Separator: 240° C, Ionenquelle: 290° C, Detektor: TIC, Empfindlichkeit: 1.

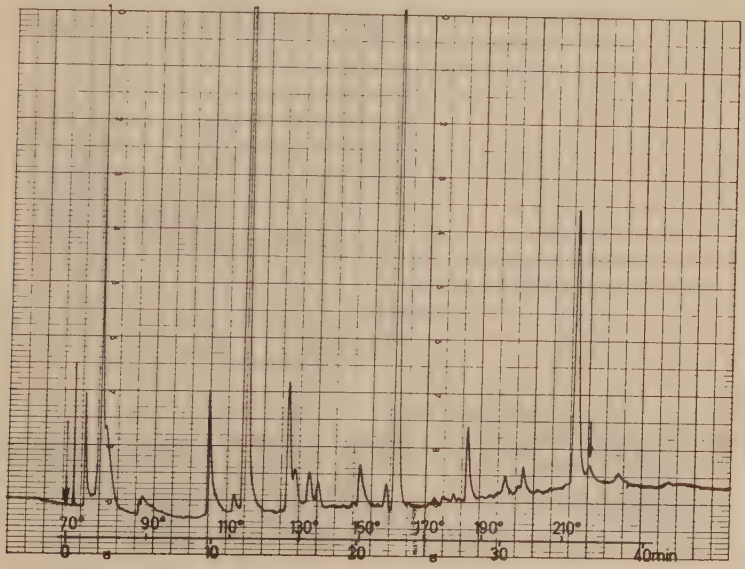
Zur Übersicht und zur Erkennung der besonders unterschiedlichen Mengenverhältnisse z. B. von Benzaldehyd und Benzylalkohol in den verschiedenen Aufarbeitungen aus den beiden Jahrgängen 1967 und 1968 sollen die einzelnen Chromatogramme,

die alle bei gleichen Bedingungen aufgenommen wurden, hier gezeigt werden:

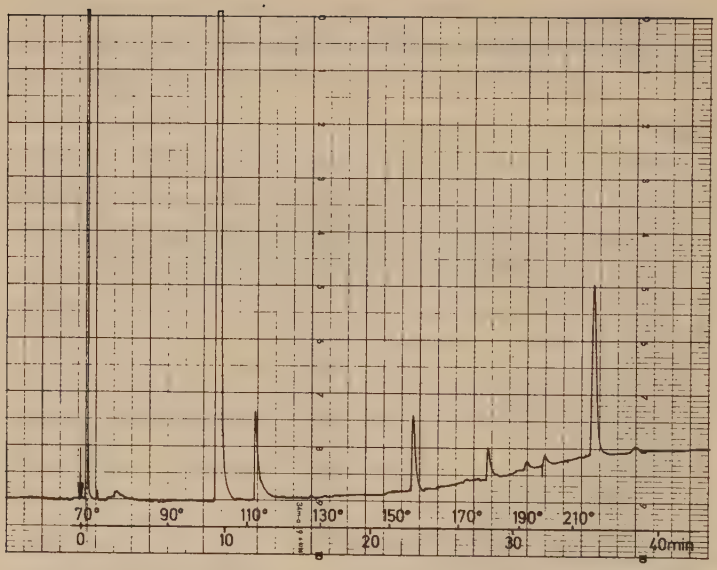
Abb. 33:



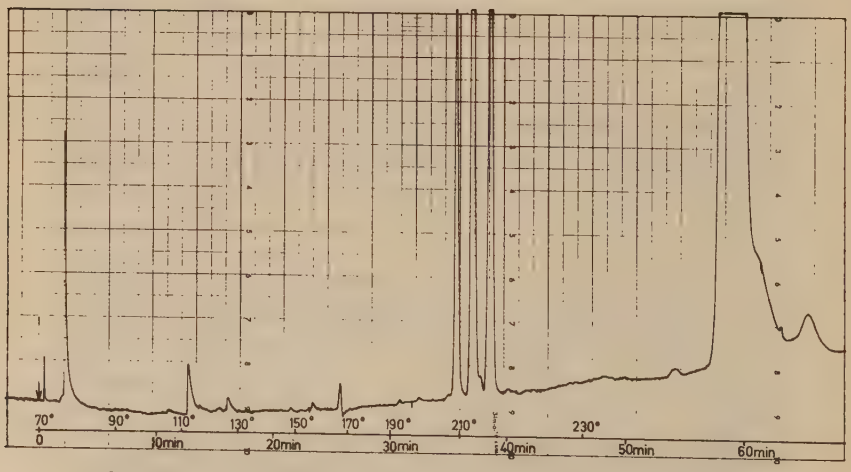
a. : 0,4 µl KAF 67/1



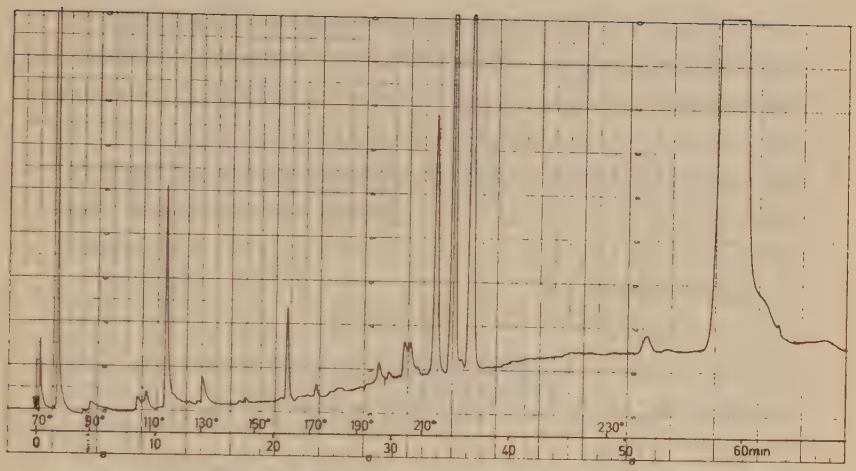
b. : 0,4 µl KAF 67/2



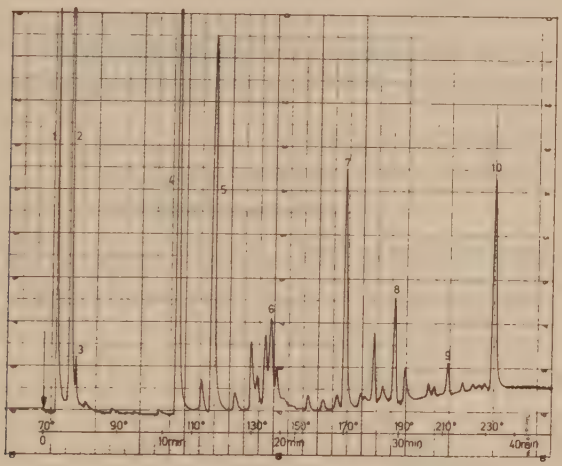
c.: 0,4 µl KAF 68



d.: 0,6 µl KAG 67



e. : 0,5 µl KAF 67/1 + H_2



f. : 0,4 µl Kirschenaroma Rekonstruktion

Bedingungen: LKB 9000, Säule L (2 m), Temperatur: s. Chromatogramm, Trägergas: 18.5 ml He/min., Einspritz - block: 250° C, Separator: 240° C, Ionenquelle: 290° C, Detektor: Totalionenstrom, Empfindlichkeit: 1.

6.2 Massenspektrometrie

Alle in dieser Arbeit gezeigten Massenspektren wurden mit dem Kombinationsgerät LKB 9000 Gaschromatograph - Massenspektrometer bei einer Elektronenenergie von 50 eV aufgenommen. Das Kathodenmaterial bestand aus einem Rheniumband. Für die Feststoffanalysen stand ein Direkteinlassystem mit direkter Heizung unter gleichzeitiger Wasserkühlung zur Verfügung. Die Proben konnten in einem Glasröhrchen direkt in die Ionenquelle verdampft werden.

Die Beschleunigungsspannung von 3.5 kV und die Vervielfachungsspannung von 1.7 kV blieb bei allen Analysen konstant.

6.3 IR-Spektroskopie

Die IR-Spektren der Abbildungen 18 und 25 wurden aufgenommen auf einem IR-Spektrometer der Firma Perkin Elmer, Model 21.

Abb. 18: 2-Phenylaethyl-benzylaether
Probenmenge: Kapillarschicht von 0.01 mm Dicke, kein Lösungsmittel.
Küvetten: NaCl-Plättchen

Abb. 25: 7-Methoxy-cumarin
Probenmenge: 1,5 mg/300 mg KBr
Küvetten: NaCl-Plättchen

6.4 NMR-Spektroskopie

Die NMR-Spektren in den Abbildungen 12 und 17 wurden mit einem Varian A-60 A Kernresonanzspektrometer aufgenommen.

Gemessen wurde gegen TMS als innerer Standard:

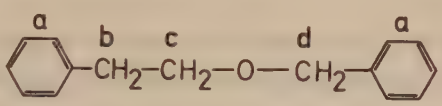
Abb. 12: Dibenzylaether

Aromatische Protonen: im Bereich um τ = 2.7

Benzyl-CH_2-Protonen: Singulett bei τ = 5.6

Die Integration liefert das berechnete Intensitätsverhältnis.

Abb. 17:



2-Phenylaethyl-benzylaether

a : Multiplett bei τ = 2.8

b : Triplett bei τ = 7.2

Kopplungskonstante J_{bc} = 7 Hz

c : Triplett bei τ = 6.5

Kopplungskonstante J_{bc} = 6,5 Hz

d : Singulett bei τ = 5.7

6.5. UV-Spektroskopie

Das UV-Spektrum des 7-Methoxycumarins wurde mit einem UV-Spektrometer RPQ 20 A V der Firma Carl Zeiss gemessen.

6.6. Grobtrennung

Die von der Firma Haarmann und Reimer zur Verfügung gestellten Aromakonzentrate wurden alle für die Dauer der Analyse in einem Tiefkühlschrank bei einer Temperatur zwischen -20 und - 40° C aufbewahrt.

Nach der Grobtrennung wurden die einzelnen Fraktionen in Kühlfallen, die durch eine Mischung von Aceton in Trockeneis auf -60 bis -80° C gekühlt wurden, aufgefangen und wie die Aromakonzentrate bei -20 bis -40° C gelagert. Beim Lagern der Konzentrate und der Fraktionen konnten weder geruchlich noch gaschromatographisch irgendwelche Veränderungen festgestellt werden.

Die Grobtrennung wurde mit dem Aromakonzentrat KAF 67/1 in 6 Fraktionen vorgenommen. (s. Abb. 2). Insgesamt wurden 35 Trennzyklen bei Einsatz von 250 µl Substanz für eine Grobtrennung durchgeführt. Naturgemäß war der Verlust an Substanz, der im Durchschnitt 40 % betrug, bei den tiefsiedenden Fraktionen größer. Bei zwei zeitlich getrennten Serien von Grobtrennungen konnten im Ganzen in der Kühlfalle I ca. 0,5 ml, in den Kühlfallen II - V je 0,35 ml Kondensat aufgefangen werden. Die Kühlfalle der Fraktion VI lieferte ungefähr 2,5 g Substanz.

6.7 Hydrierung

Zur Hydrierung wurden 150,0 µl der Charge KAF 67/1 mit PtO_2/Methanol bei Normaldruck katalytisch hydriert. Der reine Katalysator wurde vorhydriert. Die Wasserstoffaufnahme des Produktes betrug bei einer Hydrierzeit von 48 Stunden 4,0 ml Wasserstoff.

6.8 Bestimmung der Säuren

6.8.1. Aus dem Aromakonzentrat:

Ca. 5,0 ml KAF 67/1 wurden fünfmal mit je 5 ml 6 %-iger $NaHCO_3$-Lösung ausgeschüttelt. Nach Freisetzen der Säuren aus ihren Natriumsalzen mit verdünnter Salzsäure, Abtrennung

mit Aether und Konzentrierung der aetherischenLösung liessen sich die freien Säuren mit einer 1 - 2 %-igen aetherischen Lösung von Diazomethan in ihre Methylester überführen und analysieren.

6.8.2. Aus dem Kirschensirup:

200,0 g Kirschensirup wurden mit einer konzentrierten wässerigen Lösung von $NaHCO_3$ bis zu einem pH von 8 neutralisiert und fünfmal mit je 200 ml eines Aether/Pentan-Gemisches (2 : 1) ausgeschüttelt. Der Rückstand wurde nach Ansäuern mit Schwefelsäure (pH: 2-3) mit dem genannten Aether/Pentan-Gemisch extrahiert, konzentriert und die freien Säuren in der beschriebenen Weise mit Diazomethan verestert und analysiert.

6.9. Extraktion des Kirschenaroma-CO

Ca. 1000 ml Kirschenaroma-CO wurden 360 Stunden lang mit jeweils 700 ml n-Pentan p.a. in einer Kutscher-Steudel Apparatur extrahiert, wobei nach je 120 Stunden das Pentan erneuert wurde. Die vereinigten Extrakte wurden über Natriumsulfat getrocknet und über eine 35 cm lange Einstichkolonne bei vorsichtigem Erwärmen auf ungefähr 50 ml konzentriert.

6.10. Synthesen

6.10.1. Dibenzylaether

Die Darstellung von Dibenzylaether erfolgte nach einer von C.W. LOWE (39) angegebenen Vorschrift aus dem Natrium - alkoholat des Benzylalkohols und Benzylbromid.

6.10.2. 2-Phenylaethyl-benzylaether

Zur Darstellung des 2-Phenylaethyl-benzylaethers wurde die Alkoholatlösung aus 0,0875 Grammäquivalent Na und 0,42 Mol des 2-Phenylaethanols mit 0,07 Mol Benzylbromid versetzt und 5 Stunden lang unter Rückfluß gekocht. Aus dem Reaktionsgemisch wurde der überschüssige Alkohol weitgehend abdestilliert und der erkaltete Rückstand zu 35 ml 5 %-iger Natriumhydroxid-Lösung gegeben. Die organische Phase wurde sodann in Aether aufgenommen, mit $CaCl_2$ getrocknet und nach Abziehen des Aethers fraktioniert.

gef. Kp (Wasserstrahlvakuum) = 168 - 170° C
Theoret. Ausbeute: 14,8 g, gef.: 12,5 g = 84,5 %

6.10.3. 7-Methoxycumarin

Zur Darstellung von 7-Methoxycumarin wurde das durch die Firma Ega, Steinheim bezogene 7-Hydroxycumarin durch Umkristallisieren gereinigt und in der beschriebenen Weise (29) mit Dimethylsulfat zu 7-Methoxycumarin umgesetzt.

6.10.4 7-Hydroxy-4-methylcumarin

Die Darstellung von 7-Hydroxy-4-methylcumarin wurde nach einer Vorschrift aus ORGANIC SYNTHESES (40) aus Resorcin und Acetessigester bei Gegenwart von Schwefelsäure durchgeführt.

6.10.5. 4-Methoxycumarin

Zur Darstellung von 4-Methoxycumarin wurde zunächst 4-Hydroxycumarin nach einer Vorschrift von J. BOYD und A. ROBERTSON(41)

durch Kondensation von o-Hydroxyacetophenon mit Diaethylcarbonat gewonnen. Das 4-Hydroxycumarin wurde sodann mit einer 1 - 2 %-igen Lösung von Diazomethan in Aether methyliert und untersucht.

6.10.6. Acetale

Für die Darstellung der Acetale wurde ein Mol des entsprechenden Aldehydes mit je 1,2 Mol der beiden Alkoholkomponenten und ca. 5 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure 3 - 4 Stunden lang unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wurde mit Na_2CO_3-Lösung neutralisiert, mit Wasser gewaschen, von der wässerigen Phase abdekantiert und über Natriumsulfat getrocknet. Die Reinigung durch Destillation wurde umgangen, da die einzelnen Acetale ohnehin gaschromatographisch getrennt wurden.

7. Zusammenfassung

Im Verlaufe der vorliegenden Arbeit wurde das Aroma der polnischen Weichselkirsche, "Sukovka", (lat.: Prunus cerasus L., var. austera) analysiert. Obwohl ca. 70 Substanzen von schätzungsweise 120 vorhandenen unter hauptsächlicher Verwendung der Gas-Chromatographie und der Massenspektrometrie und der Kombination der beiden Analysenmethoden identifiziert wurden, konnte für keine dieser Substanzen ein für die Kirschen typisches Aroma nachgewiesen werden; es konnte vielmehr gezeigt werden, daß das typische Kirschenaroma erst durch eine Mischung einer relativ großen Anzahl von Substanzen erzielt wurde, von denen der Benzaldehyd eine, wenn auch nicht spezifische, so doch nicht unwesentliche Bedeutung besitzt. Geruchlich von besonderem Interesse dürfte der im Verlaufe dieser Arbeit nachgewiesene 2-Phenyl-aethyl-benzylaether sein. Große Wichtigkeit für ein künstliches Kirschenaroma haben nach den organoleptischen Befunden die Substanzen mit einem Siedepunkt zwischen 200 und 300 ^{o} C, weswegen diese Fraktion für weitere Arbeiten auch noch genauer untersucht werden sollte.

Nach den gefundenen Ergebnissen wurde unter Verwendung von halbquantitativen Angaben eine versuchsweise Rekonstruktion des Kirschenaromas unternommen, die nach organoleptischer und auch gaschromatographischer Prüfung recht gut mit dem Originalextrakt übereinstimmte.

8. Literatur

(1) O. Schmeil und J. Fitschen, Flora v. Deutschld., 68. Auflg., 1958, Quelle u. Meyer, Heidelberg

(2) Fr. Th. Heim, Systemat. Klassifikation und Beschreibung der Kirschensorten, 1819, Stuttgart.

(3) E. L. Batchelder, Wash. State Hort. Assoc., Proc. 28th Ann. Meeting 1932, 177-80, nach C. A. 28, 4772[1] (1934)

(4) H. Mohler, Z. Lebensm. - Untersuch., 68, 241 (1934)

(5) E. K. Nelson und A. L. Curl, J. Amer. chem. Soc., 61, 667 (1939)

(6) E. Bayer, G. Kupfer und K. H. Reuther, Z. analyt. Chem., 164 (1), 1 (1958)

(7) E. A. Day und D. F. Anderson, J. Agr. Food Chem., 13 (1), 2 (1965)

(8) K. P. Dimick und J. Corse, Food Technol., 10, 360 (1956)

(9) W. H. Mc Fadden, R. Teranishi, J. Corse, D. R. Black und T. R. Mon, J. Chromatog., 18, 10 - 19 (1965)

(10) R. G. Buttery und R. Teranishi, Analytic Chem. 33, 1439 (1961)

(11) K. Wucherpfennig und G. Bretthauer, Z. Analyt. Chem., 228, 5, 342 (1967)

(12) O. Riedl, Gordian LXII. Jg., 646 (1962)

(13) K. H. Strackenbrock. Symposium Fruchtaromen, wiss. techn. Kommission, Internat. Fruchtsaft-Union, 287-299 (1962) Bern

(14) W. G. Jennings, J. Food Sci., 26, 564 (1961)

(15) G. Berner, Dissertation Universität Tübingen (1966)

(16) E. Bayer, Gas-Chromatographie, S. 138, 2. Auflg., Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1962)

(17) Scheide-Fischer, Literaturrecherche über die In - haltsstoffe der Kirsche, Holzminden 1967, unver - öffentlicht

(18) J. Schormüller und W. Grosch, Z. Lebensm. - Unter - such., 126, 41 (1965)

(19) E. Waser und G. Mosca, Z. Lebensm. - Untersuch., 74, 134-154 (1937)

(20) G. Spiteller, "Massenspektrometrische Strukturanalyse organischer Verbindungen", Verlag Chemie, Weinheim (1966)

(21) H. Mohler und W. Hämmerle, Z. Lebensm. - Untersuch., 70, 325 - 44 (1935)

(22) C. Lozzi, Parfum. Cosmet. Savons 8 (9), 383 - 5 (1965)

(23) S. Juvonen, Planta Med., 12 (4) 488 - 500 (1964)

(24) K. Windisch, Arb. ksl. Gesdh. amt (Beiheft zu den Veröff. ksl. Gesdh. amt 11, 285 (1895))

(25) H. E. Nursten und A. A. Williams, Chem. and Ind., 486 (1967)

(26) J. H. Beynon: "Mass Spectrometry and its Application to Organic Chemistry", Elsevier, Amsterdam 1960

(27) K. Biemann: "Mass Spectrometry. Organic Chemical Applications", McGraw-Hill, New York 1962

(28) H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams: "Mass Spectrometry of Organic Compounds" Holden-Day, Inc., San Francisco, 1966

(29) "Organikum", Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, 4. Aufl., (1964)

(30) T. Nakabayashi, T. Tokoroyama, H. Miyazaki und S. Isono, J. Pharm. Soc. Japan 73, 670 (1953)

(31) C. S. Barnes und J. L. Occolowitz, Austral. J. Chem., 17 (9), 975 - 86 (1964)

(32) L. Barth, und J. Herzig, Mh. Chem., 10, 162 (1890)

(33) Biul. Inst. Roslin, Leczniczych, 9 (3), 121-35 (1963) nach C.A. 61, 3570 d (1964)

(34) F.B. Power und H. Browning jun., J. Chem. Soc. (London) 105, 2284 (1914)

(35) Arch. Biochem. Biophysics, 106 (1), 275-9 (1964) nach C.A. 61, 6293 g (1964)

(36) A. St. Pfau, Perfumery Essent. Oil Record, 18 205 nach C. 1927II, 2122

(37) Ukrain. biokhim. Zhur., 37 (6), 915-19 (1965) nach C.A. 64, 10 089 f (1966)

(38) J. Wolf, Planta, 51, 547-565 (1958)

(39) C.W. Lowe, Liebigs Ann. Chem. 241, 374 (1887)

(40) "Organic Syntheses", Collective Volume 3, New York (1955), Wiley u. Sons, Inc.

(41) J. Boyd und A. Robertson, J. Chem. Soc. (London) 714, (1948)

Lebenslauf

Am 15. Januar 1938 wurde ich als Sohn des Apothekers Clemens Ebbighausen und seiner Ehefrau Martha, geb. Elbracht, in Tecklenburg in Westfalen geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule in Lengerich in West - falen von 1945 - 1949 wurde ich im Herbst 1949 in das Gym- nasium der Stadt Osnabrück eingeschult. Im Herbst 1950 erhielt mein Vater die Konzession einer Apotheke in Ahlen in Westfalen, wo ich fortan das Städtisch Neusprachliche Gymnasium besuchte und im März 1959 die Reifeprüfung ab - legte.

Nach einem 2-jährigen Praktikum in der Schloss-Apotheke in Rheda/Westf. bestand ich im März 1961 die pharmazeutische Vorprüfung vor der Regierung des Reg. Bez. Detmold. In Er - mangelung eines Arbeitsplatzes in einem pharmazeutischen In - stitut zur Fortsetzung des Pharmaziestudiums studierte ich im SS 1961 und im WS 1961/62 an der Staatlichen Hochschule für Bildende Künste der Stadt Hamburg Malerei.

Im Sommer 1962 bekam ich einen Laborplatz imPharmazeu - tischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität in Münster. Nach einer Unterbrechung von 10 Monaten, in denen ich nach dem Tode meines Vaters die Weiterführung der elter - lichen Apotheke zu besorgen hatte, bestand ich im November 1966 in Münster die pharmazeutische Prüfung. Von November

1966 bis Mitte März 1967 habe ich in einer Ahlener Apotheke einen Teil meiner Kandidatenzeit absolviert.

Die vorliegende Doktorarbeit wurde in der Zeit von März 1967 bis April 1969 unter der Leitung von Herrn Professor Dr. Ernst Bayer im Chemischen Institut der Eberhard-Karls-Universität Tübingen durchgeführt.

Meine akademische Ausbildung verdanke ich den Herren Professoren H.Auterhoff, E. Bayer, K. Arnold, W. Baumeister, W. Haarmann, E. Kappler, W. Klemm, A. Kreutzberger, F. Lembeck, K. Mägdefrau, F. Micheel, J. Reisch, H. Reznik, K.E. Schulte, E. Schratz, G. Weitzel, G. Zinner.